

OBTENCIÓN DE UNA BASE PROTEICA A PARTIR DE LOS RESIDUOS
SÓLIDOS DE CURTIEMBRES PARA LA MANUFACTURA DE ALIMENTOS
BALANCEADOS

FRANCY EUGENIA QUIPO MUÑOZ

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA
ESPECIALIZACIÓN EN PROCESOS DE ALIMENTOS Y BIOMATERIALES
POPAYÁN
2020

OBTENCIÓN DE UNA BASE PROTEICA A PARTIR DE LOS RESIDUOS
SÓLIDOS DE CURTIEMBRES PARA LA MANUFACTURA DE ALIMENTOS
BALANCEADOS

FRANCY EUGENIA QUIPO MUÑOZ

Trabajo de grado para optar al título Especialista en Procesamiento de Alimentos y
Biomateriales.

Director: Vicente Ortiz
Magister en Ingeniería de Alimentos

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA
ESPECIALIZACIÓN EN PROCESOS DE ALIMENTOS Y BIOMATERIALES
POPAYÁN
2020

Nota de aceptación

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Popayán 15 de Mayo, 2020

Nota de responsabilidad

“Este documento es responsabilidad del estudiante por tal motivo la Universidad Nacional Abierta y a Distancia no se hace responsable de los conceptos emitidos por el investigador en este documento, solo velará por el rigor científico metodológico y ético, el mismo en aras de la búsqueda de la verdad y justicia”.

DEDICATORIA

A:

Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Mis padres Rosaura Muñoz y Esteban Quipo por darme la vida, creer en mí y porque siempre me apoyan. Gracias por darme una carrera para mi futuro, todo esto se lo debo a ustedes.

Mis hermanos, por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero infinitamente. A Todos mis amigos, por compartir buenos y malos momentos y porque también son parte de este proceso.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a Dios por haberme guiado por el camino del bien hasta ahora; en segundo lugar a las personas que me motivan a ser cada vez mejor, ellos son mis padres Esteban Quipo y Rosaura Muñoz, a mis hermanos y sobrinos; porque son mi motivación y siempre me han dado su fuerza y apoyo incondicional que me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora. A mi tutor y director de proyecto de grado quién me ayudó y me apoyo en todo momento, Msc Vicente Ortiz mil gracias por su compromiso y comprensión en este proceso. A la Alcaldía de Belén Nariño por el apoyo económico al proyecto y a la Universidad del Cauca por su apoyo en los resultados de los análisis de las muestras en el marco de la alianza estratégica con la Universidad Nacional Abierta y a Distancia para el desarrollo de proyectos de investigación.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	3
1.MARCO DE LA INVESTIGACIÓN	5
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
1.4 JUSTIFICACIÓN	6
1.5 OBJETIVOS.....	9
1.4.1 Objetivo general.....	9
1.4.2 Objetivos específicos	9
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	10
2.1 QUÍMICA DE LA PIEL DE BOVINO.....	10
2.1.1 Composición :	10
2.1.2 Hinchamiento de la piel.....	12
2.1.2.1 El hinchamiento liotrópico.	12

2.1.2.2 El hinchamiento osmótico..	13
2.2 COLAGENO.....	13
2.2.1 Desnaturalización..	15
2.3 ETAPAS PREVIAS A LA OBTENCIÓN DE LOS RESIDUOS EN EL PROCESO DE CURTIDO.....	16
2.3.1 Recepción de pieles crudas.	16
2.3.2 Remojo.....	17
2.3.3 Calero..	17
2.3.4 Pelambre.....	17
2.3.5 Descarnado.....	17
2.4 PROCESO DE OBTENCION DE LA BASE PROTEICA.....	18
2.4.1 Corte..	19
2.4.2 Hidrólisis de colágeno.....	19
2.4. 2.1 Hidrólisis acida:.....	19
2.4.2.2 Hidrólisis básica:	20
2.4.2.3 Hidrólisis enzimática:	20
2.4.2.4 Hidrólisis térmica.....	20

2.5 CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES DE LA BASE PROTEICA	20
2.5.1 Digestibilidad de la harina de carnaza..	22
2.6 ALIMENTOS BALANCEADOS.	24
2.6.1 Clasificación de alimentos balanceados.	25
2.6.2 Proceso de manufactura de los alimentos balanceados:	26
2.6.2.1 Recepción de materia prima.	26
2.6.2.2 Formulación.	26
2.6.2.3 Pesaje.	26
2.6.2.4 Molienda.	27
2.6.2.5 Mezclado.....	27
2.6.2.6 Peletización.....	27
2.6.2.7 Extrusión	27
2.6.2.8 Recubrimiento.....	27
2.6.2.9 Empacado.....	27
2.6.2.10 Almacenado.	27
2.6.3 Producción de alimentos balanceados a nivel mundial y nacional.....	27

3. METODOLOGÍA	32
3.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.1.1 Análisis químico.	32
3.1.1.1 Determinación del contenido de proteína.....	32
3.1.1.2 Determinación del contenido de humedad.....	32
3.1.1. 3 Determinación de grasa.....	33
3.1.1.4 Determinación de cenizas.....	33
3.1.1.5 Determinación de pH.	33
3.2 TRATAMIENTO TÉRMICO	33
3.3 HIDRÓLISIS DE LA PROTEÍNA	33
3.4 DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA	34
3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y PROCESAMIENTO ESTADISTICO	35
3.5.1 Diseño factorial	36
3.5.2 Análisis estadísticos.....	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1 ANÁLISIS QUÍMICO DE LA MATERIA PRIMA.....	38

4.2 OBTENCIÓN DE LA BASE PROTEICA.....	40
4.3 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE HIDRÓLISIS.....	43
4.4 DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA BASE PROTEICA	49
5. CONCLUSIONES	58
6. RECOMENDACIONES.....	60
BIBLIOGRAFÍA.....	61
ANEXOS.....	72

LISTAS DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características físicas de las harinas de tenería.....	21
Tabla 2. Comparación nutricional de harinas obtenidas de subproductos.....	22
Tabla 3. Análisis químico de la harina de carnaza.....	24
Tabla 4. Producción de alimentos a nivel mundial, 2017	28
Tabla 5. Producción de alimentos balanceados en Colombia	31
Tabla 6. Variables de entrada	35
Tabla 7. Diseño factorial 2^2	36
Tabla 8. Caracterización química del residuo sólido.....	38
Tabla 9. Combinaciones de factores y las variables respuesta %GH y Digestibilidad para cada tratamiento.....	41
Tabla 10. Análisis de varianza para el Grado de Hidrólisis (GH)	45
Tabla 11. Análisis de varianza para determinar Digestibilidad.....	52

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ruptura de puentes de hidrogeno por hinchamiento liotrópico de la piel de bovino	13
Figura 2. Representación de la desnaturalización del colágeno.....	16
Figura 3. Diagrama de bloques de obtención de residuos a partir de la piel de bovino	18
Figura 4. Diagrama de bloques para la obtención de la base proteica	18
Figura 5 Composición y clasificación de los alimentos balanceados	25
Figura 6 Diagrama de bloques para la obtención de alimento balanceado.	26
Figura 7. Tasa de crecimiento de los alimentos balanceados en el mundo	29
Figura 8. Variables de estudio	36
Figura 9. Efecto que ejercen los factores A, B y AB sobre el GH	47
Figura 10. Interacción entre los factores principales.....	48
Figura 11. Efecto que ejercen los factores (A,B) y la interacción (AB) sobre la digestibilidad	54
Figura 12. Interacción de los factores principales sobre la digestibilidad.....	55

LISTA DE ANEXOS

Pág.

ANEXO 1. Características de la materia prima	76
ANEXO 2. Imágenes del proceso para la obtención de la base proteica	82

GLOSARIO

ALIMENTO BALANCEADO: es el producto alimenticio resultante de la mezcla final de materias primas de origen vegetal, animal, vitaminas, minerales y aminoácidos, definidas en las normas correspondientes; además, puede contener aditivos no nutricionales aprobados por la autoridad competente

CARNAZA: cara de las pieles que ha estado en contacto con la carne y es opuesta a la flor.

ELASTINA: proteína que se halla en los tejidos cartilaginoso, óseo y conjuntivo, cuya función es la de hacer que, tras realizar un esfuerzo, los tejidos recuperen su tamaño normal.

DIGESTIBILIDAD: la digestibilidad es una forma de medir el aprovechamiento de un alimento, es decir, la facilidad con que es convertido en el aparato digestivo en sustancias útiles para la nutrición.

GRADO DE HIDRÓLISIS: el grado de hidrólisis es la fracción del ion que reacciona con el agua.

HIDRÓLISIS: descomposición de sustancias orgánicas e inorgánicas complejas en otras más sencillas por acción de agua.

NUCLEOFÍLICO: en química un nucleófilo es una especie que reacciona cediendo un par de electrones libres a otra especie, combinándose y enlazándose covalentemente con ella.

PEPTIDOS: compuesto formado por la unión de un número reducido de aminoácidos.

RESIDUO SÓLIDO: constituyen aquellos materiales desechados tras su vida útil, y que por lo general por sí solos carecen de valor económico. Se componen principalmente de desechos procedentes de materiales utilizados en la fabricación, transformación o utilización de bienes de consumo.

QUERATINA: proteína rica en azufre que constituye la parte fundamental de las capas más externas de la epidermis y de tejidos como las uñas, el pelo, las plumas, las pezuñas o los cuernos.

RESUMEN

La piel de bovino contiene grasa, agua y un gran porcentaje de proteína según lo reporta la literatura. En el proceso de transformación de las pieles en cuero se desprecian subproductos (recortes de piel, grasa etc.), estos se caracterizan por su alto contenido de proteínas y aminoácidos, que al ser sometidos a procesos de hidrólisis, se obtienen productos para la alimentación animal, por consiguiente, el objetivo de este trabajo fue obtener una base proteica a partir de los residuos sólidos (piel), recuperados en las primeras etapas de transformación de la piel de bovino en cuero, provenientes de las curtiembres de Belén Nariño y su respectivo estudio de digestibilidad para la posible formulación de un alimento balanceado, dirigido a la alimentación animal. Para la obtención de la base proteica se aplicó una hidrólisis térmica, donde las variables independientes fueron la temperatura (70°C y 90°C) y tiempo (2 y 4 horas), siendo las variables de respuesta el grado de hidrólisis (GH) y digestibilidad. Para evaluar los datos obtenidos en el laboratorio, se llevó a cabo un diseño experimental factorial 2². Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) con un intervalo de confianza $p < 0.05$. Como resultado se obtuvo que los factores temperatura y tiempo, así como la interacción tienen un efecto significativo sobre las variables respuesta grado de hidrólisis y digestibilidad, de manera que con una temperatura de 90°C y un tiempo de 4h se obtuvieron valores altos, tanto para el grado de hidrolisis como para la digestibilidad, sin embargo, si hubo una mayor sensibilidad de las variables respuesta frente al factor tiempo cuando este aumenta. En conclusión la base proteica obtenida es un producto de alto valor debido a sus características especiales, por esta razón es viable para la manufactura de los alimentos balanceados para la alimentación animal, debido a su contenido proteico, alto grado de hidrólisis y digestibilidad que posee, así como también por el bajo costo al que se puede adquirir, generando una relación costo-beneficio en las curtiembres, no obstante, se deben controlar las variables de entrada para evitar la pérdida de aminoácidos importantes en la alimentación animal.

ABSTRACT

Bovine skin contains fat, water, and a large percentage of protein as reported in the literature. During the transformation process of the skins into leather useful by-products (skin trimmings, fat, etc.) are unexploited; such by-products are considered to be a good source of proteins and amino acid when they are subjected to hydrolysis processes. These by-products could be transformed into animal feed. This research aimed to obtain a protein base from solid residues (skin), recovered in the early stages of transformation of bovine skin into leather, from the tanneries of Belen Nariño and its respective digestibility study for the possible formulation of balanced animal feed. To obtain the protein base thermal hydrolysis was applied, posing the independent variables such as temperature (70 ° C and 90 ° C) and time (2 and 4 hours). The response variables were the degree of hydrolysis (GH) and digestibility. Evaluating the data obtained in the laboratory, an experimental factorial design of 22 was carried out. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) with a confidence interval of $p < 0.05$. As a result, it was obtained that the temperature and time factors, as well as the interaction, have a significant effect on the variables response degree of hydrolysis and digestibility, so that with a temperature of 90 °C and a time of 4h high values were obtained, both for the degree of hydrolysis as for digestibility. However, there was a greater sensitivity of the response variables against the time factor when it increased. In conclusion, the protein base obtained is a high-value product due to its special characteristics, for this reason, it is viable for the manufacture of balanced feed for animal feed, thanks to its high degree of hydrolysis and digestibility, as well as the low cost at which it can be purchased, generating a cost-benefit ratio in tanneries. The input variables must be controlled to avoid the loss of important amino acids in animal feed.

INTRODUCCIÓN

En Colombia el sacrificio de ganado alcanza las 947 mil toneladas de carne de res en canal, es decir 3,98 millones de cabezas anuales, del cual se obtiene una cantidad significativa de residuos o subproductos (37,7% aproximadamente) tales como cuero, cabeza, sangre, vísceras, patas y contenido digestivo (Salazar, López y Cano, 2012). De estos especialmente la piel es llevada a las curtiembres para su debida transformación en cuero. En las diferentes etapas del proceso de curtido se desprecian subproductos (recortes de piel, grasa etc.), los cuales se caracterizan por su alto contenido en proteínas y aminoácidos. De ahí que, estos subproductos al ser sometidos a procesos de hidrólisis generarán productos con valor agregado para la alimentación animal, el cual es el punto de partida de este proyecto de investigación.

Las curtiembres a nivel nacional se caracterizan por ser principalmente pequeñas y medianas empresas. El 81.3% se concentra en el departamento de Cundinamarca, en los municipios de Villa pinzón y Choconta, y el barrio San Benito ubicado en Bogotá, seguido de un 9,6% en el departamento de Nariño (Pasto y Belén), 4,1% en el departamento del Quindío (La María) y 3,3% en el Valle del Cauca (Cartago y Cerrito), mientras que Antioquia posee el 1,1% y otros departamentos como Atlántico, Santander, Bolívar y Risaralda representan en conjunto el 1% (Rojas, 2010).

Por consiguiente, se requiere de una nueva visión en el análisis de procesos de transformación de subproductos de la industria de las curtiembres, con el objetivo de adelantar sistemas donde se involucren procesos de recuperación, para evitar su acumulación en el ambiente por encima de los niveles tolerables. El aprovechamiento de estos residuos no solo genera mayores ingresos para la industria y más empleo para la población, sino que reduce la contaminación

protegiendo los recursos naturales para las generaciones presentes y futuras (Rojas, 2010).

Una alternativa para el aprovechamiento de estos subproductos es la manufactura de los alimentos balanceados para animales. Teniendo en cuenta que la alimentación animal, históricamente ha competido por materias primas con la alimentación humana, tales como el maíz, el sorgo, la soya, etc., los cuales constituyen la base de los alimentos concentrados para la alimentación animal, y es allí donde se genera la rivalidad entre estos; en este momento, a dicha disputa se le suma un tercer actor y son los biocombustibles, los cuales se basan para su producción en muchos de estos cereales y granos, escaseándolos y por ende encareciéndolos; por tal razón, es necesario plantear alternativas de alimentación animal basada en fuentes y alimentos no convencionales (residuos de cosecha, materiales fibrosos, desechos de la industria, etc.) (Borras y Torres, 2016).

Por lo tanto es importante crear una armonía entre el sector industrial y el ambiente, generando nuevas tecnologías y procesos que transformen estos residuos en productos que generen mayores ingresos para las industrias dedicadas a esta actividad, satisfagan las necesidades de la sociedad y aumenten la competitividad de las agroindustrias, elaborando productos innovadores con tecnologías y procesos más limpios donde se utilicen al máximo una gran cantidad de subproductos que pueden generar en el entorno un desequilibrio ambiental.

1. MARCO DE LA INVESTIGACIÓN

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para esta investigación se tuvo como punto geográfico de partida al Municipio de Belén, ubicado al norte del departamento de Nariño. La economía de dicho municipio se fundamenta en el procesamiento de pieles de ganado bovino, para ser transformadas en materia prima para la confección de artículos en cuero. La industria del cuero es fundamental en la economía del municipio de Belén, pues el 70% de la población depende de ella, el sector agropecuario tiene una participación del 30 % en la economía territorial. Denotando así que la principal actividad económica del municipio es el procesamiento y obtención del cuero. Este oficio es llevado a cabo por la mayoría de los 3.127 habitantes que tiene el municipio en su casco urbano, a los que se suman personas del sector rural quienes también se dedican a esta labor (DANE, Censo general 2005). El municipio de Belén actualmente cuenta con 46 curtiembres en funcionamiento y una producción mensual promedio por curtiembre de 700 pieles (Secretaria de planeación Municipal de Belén, 2015), procesando un promedio mensual de 32.200 pieles, con un peso por piel que varía entre los 20 y 30 kg, del cual de 3 a 5 Kg aproximadamente son residuos sólidos putrescibles lo cual da un promedio de 128.800 Kg por mes, este residuo debe ser recogido por los propietarios de las curtiembres quienes deben pagar para que los residuos en mención sean llevados al relleno sanitario Antanas, ubicado en la ciudad de Pasto, esto genera un costo mensual aproximado de \$10.000.000 de pesos a los propietarios de las curtiembres. Como se puede observar la cantidad de estos residuos (128.800 Kg/mes) es considerable más aún cuando se está desaprovechando una materia prima en potencia para la producción de una base proteica a la que se le puede dar un uso adicional, en este caso en la elaboración de un alimento balanceado para la dieta animal.

Se hace necesario entonces, implementar una estrategia para el aprovechamiento de los residuos sólidos putrescibles, permitiendo así generar una solución con viabilidad económica por el bajo costo de la materia prima.

Los subproductos objeto de estudio, se obtienen en las primeras etapas de transformación de la piel en cuero, exactamente en el descarte. A manera general, la piel está compuesta por proteínas de las cuales aproximadamente un 94- 95% son colágeno, 1% elastina, 1-2% queratina y el resto son proteínas no fibrosas. La piel vacuna contiene poca grasa, de la cual el 75-80% son triglicéridos. Según la procedencia de las pieles, pueden variar considerablemente las proporciones de compuestos nutricionales en los subproductos, pues esto afecta los rendimientos de cada uno de los productos a obtener (Guía para el control y prevención de la contaminación industrial, 1999). En función de la información reportada en los diferentes recursos bibliográficos, este subproducto se puede utilizar como parte de los ingredientes de la formulación para la respectiva elaboración de alimentos balanceados para la dieta animal.

1.3 FORMULACIÓN DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Es posible obtener una base proteica a partir de los subproductos, obtenidos en la primera fase de transformación de la piel en cuero, que sirva como fuente de aprovechamiento para la elaboración de un alimento balanceado?

1.4 JUSTIFICACIÓN

De pertinencia institucional: La Universidad Nacional Abierta y a Distancia desde su misión tiene un alto compromiso, por generar nuevo conocimiento que permita resolver problemas en un contexto real, lo que le permite tener un impacto en las

esferas de conocimiento, social y ambiental. El presente proyecto se identifica plenamente con la misión institucional de la UNAD.

De aporte a la social o disciplina: Considerando que la economía del municipio de Belén se basa principalmente en la industria del cuero, en el desarrollo de la cual se ha observado una problemática real descrita anteriormente, en cuanto los residuos sólidos que se generan en la etapa de descarte, los cuales están generando costos por concepto de transporte de estos hasta un relleno sanitario en la ciudad de Pasto a 3 horas del municipio de Belén. Por otra parte, los 128.800 kg/mes de residuos es una cantidad importante, más aún cuando se trata de una materia prima potencialmente aprovechable, de esta forma se genera un costo de oportunidad alto por el desperdicio de estos residuos. Por lo anterior es fundamental que desde la academia se puedan viabilizar alternativas de aprovechamiento de estos residuos a través de la generación de nuevo conocimiento, lo que potencialmente generará un impacto social importante en la comunidad del municipio de Belén. Adicionalmente con el desarrollo exitoso de este trabajo, se podrá transferir a otras regiones del país donde también realizan el procesamiento de la piel en cuero.

En lo referente a la información bibliográfica sobre la utilización de este residuo en Colombia, se puede afirmar que este trabajo es innovador pues no existen trabajos académicos relacionados con el tema en cuestión en el país, así como tampoco datos de comercialización de los productos obtenidos (alimentos balanceados) a partir de los residuos de la piel de bovino. En si los estudios que se encuentran actualmente están relacionados con la extracción de gelatina para el sector alimentario (Barquero y Rodríguez, 1991; Ortiz y Martínez, 2009; Serna, Pineda y Ayala, 2007) a partir de subproductos de la piel de bovino. De ahí que se plantea la idea de elaborar una base proteica rica en nutrientes utilizando subproductos obtenidos en las primeras etapas del beneficio, en la manufactura de la piel bovina. Como lo menciona Bank (1980), estos residuos son ricos en nutrientes proteicos,

de tipo fibroso y corresponden a la estructura del tejido conectivo de los animales superiores que se encuentran en mayor cantidad en el área reticular de la dermis de los bovinos (González y Sáenz, 1998).

Según González y Sáenz (1998) afirman que el uso potencial de estos desechos proteicos no ha sido debidamente explotado; su bajo costo y el contenido de aminoácidos que posee, son adecuados para ser usados como fuente de proteína, ya sea para enriquecer las dietas de ganado bovino, o como materia prima para la obtención de aminoácidos e hidrolizados, también pueden ser utilizados en la industria de la alimentación, como complementos alimenticios, suplementos o potenciadores de sabor, y productos no alimenticios como fertilizantes, adhesivos, y en la industria farmacéutica. Esto da una idea del campo tan extenso donde estos subproductos pueden ser utilizados.

1.5 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general.

Obtener una base proteica a partir de los residuos sólidos (piel), recuperados en las primeras etapas de transformación de la piel de bovino en cuero, provenientes de las curtiembres de Belén Nariño y su respectivo estudio de digestibilidad para la posible formulación de un alimento balanceado en la dieta animal.

1.4.2 Objetivos específicos.

Determinar las características fisicoquímicas básicas de los residuos sólidos objeto de estudio.

Obtener la base proteica mediante la aplicación de un tratamiento térmico.

Determinar las propiedades básicas de la base proteica obtenida, mediante la evaluación de la digestibilidad y el grado de hidrólisis.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

Para elaborar la base proteica, se deben conocer ciertos aspectos teóricos como la química de la piel del bovino, (de donde proviene el subproducto estudiado), el colágeno, las etapas previas a la obtención de los residuos sólidos putrescibles (para conocer cómo se obtiene el subproducto), los procesos de obtención de la base proteica mediante hidrólisis térmica, las características y propiedades de la base proteica, usos del subproducto, procesos de obtención de los alimentos balanceados.

2.1 QUÍMICA DE LA PIEL DE BOVINO

2.1.1 Composición. La piel, tegumento externo del organismo que conforma la superficie del cuerpo que establece la relación directa con el medio ambiente, está constituida por tres capas, al tiempo que presenta un conjunto de estructuras anexas como las glándulas sudoríparas y sebáceas. Actúa como órgano protector contra estímulos mecánicos, físicos y químicos que pueden conceptuarse como agresores de la integridad del cuerpo animal (Álvarez, et al., 2009). La piel también presenta una función sensitiva, al contar con receptores sensitivos en su superficie, una función de comunicación y expresión, una función metabólica y de reserva, y un sistema de vigilancia inmunológica de alta complejidad (Colorado, Agudelo, y Moncada, 2013). La composición aproximada de la piel bovina es 64% de agua y 33% de proteínas estructurales y no estructurales. En particular, las proteínas estructurales son colágeno (29%), queratina (2%), elastina (0,3%), mientras que las proteínas no estructurales son albúminas, globulinas (1%), mucinas, mucoides (0,7%). Como componentes menores, las grasas (2%) y otras sustancias (0,5% de componentes inorgánicos, 0,5% de pigmentos, etc.) (Varnali citado en Beghetto, Zancanaro, Scrivanti, Matteoli y Pozza, 2013).

Entre estos valores se presenta un contenido considerable de agua en la piel. Aproximadamente un 20% de esta agua se encuentra combinada con las fibras de colágeno de forma similar al agua de cristalización y por tanto no contribuye a dar sensación de humedad. El resto se encuentra en forma libre entre las fibras. Del total de las proteínas que tiene la piel aproximadamente un 94-95% es colágeno, 1% elastina, 1-2% queratina y el resto son proteínas no fibrosas (Covington, 2011). Las proteínas de la piel se clasifican en dos grandes grupos: fibrosas y globulares. Las fibrosas son las queratinas, el colágeno y la elastina; y las globulares son las albúminas y las globulinas. Las queratinas se encuentran en todo el sistema epidérmico, constituyendo la epidermis, el pelo y las células epiteliales de las glándulas siendo su función de protección. Son insolubles en agua, en soluciones salinas neutras, en ácidos, y álcalis diluidos. Son parcialmente resistentes a las enzimas proteolíticas. La característica distintiva de las queratinas es su alto contenido de azufre, debido a la cisteína y a la metionina (González y Jiménez, 2007).

El colágeno es una proteína del corium siendo el más importante constituyente de la piel, para el curtido, pues reacciona con los agentes curtientes para formar pieles acabadas. Contiene grupos aminoácidos básicos y ácidos, aminoácidos no polares, bastante prolina, hidroxiprolina y glicina y pocos aminoácidos aromáticos. En soluciones neutras el colágeno es insoluble, y sin el uso de calor o degradación bacteriana, no se descompone en solución acuosa. Puede disolverse en ácidos y álcalis fuertes (González y Jiménez, 2007). Mientras que, la elastina, es una proteína de las fibras elásticas, se diferencian del colágeno al ser estas poco estructuradas y poseer ramificaciones. Son muy resistentes al agua y más que el colágeno a los ácidos, álcalis y enzimas proteolíticas (González y Jiménez, 2007).

Las proteínas globulares se encuentran en la piel formando parte de la sustancia intercelular. Proceden del protoplasma de las células vivas de la piel, y del plasma

sanguíneo que sirve para su alimentación. Son muy reactivas químicamente y fácilmente solubles, ya que contienen muchos grupos ácidos y básicos. Se consideran como albúminas a las proteínas solubles en agua, y como globulinas las que no lo son (Covington, 2011).

Entre los lípidos que contienen la piel, los triglicéridos son los componentes más abundantes. Los triglicéridos forman depósitos que sirven de reserva nutritiva para el animal. Se encuentra diluidos por toda la dermis, pero se acumulan sobre todo el tejido subcutáneo constituye el tejido adiposo (Covington, 2011).

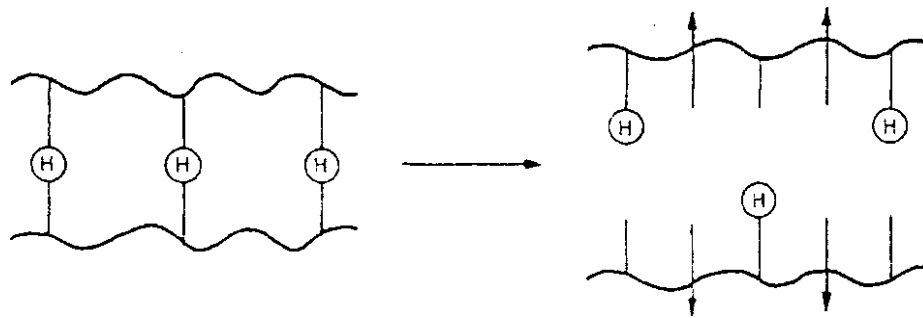
Al incinerar la piel fresca se obtiene un residuo de cenizas que corresponde a las sustancias minerales. En estas cenizas se encuentran fosfatos, carbonatos, sulfatos, cloruros de sodio, potasio, magnesio, calcio, azufre y hierro, el componente principal es el cloruro de sodio (Covington, 2011).

2.1.2 Hinchamiento de la piel. La fabricación de cuero implica una serie de operaciones, en las que los procesos de encalado desempeñan un papel crucial en la producción de cueros. Al encalar, las proteínas solubles que componen la piel se pueden disolver, por ende, resulta una apertura de los haces de las fibras de colágeno y la disolución de los componentes que no son colágeno, lo que produce un hinchamiento de la piel (Liu, et al., 2019). Este último puede ser liotrópico y osmótico (Covington, 2011).

2.1.2.1 El hinchamiento liotrópico. Lo provocan algunas sales neutras, por ejemplo, CaCl_2 y KSCN , llamadas sales liotrópicas (Covington, 2011). Normalmente la cal deja la piel un poco vacía, por el mencionado efecto liotrópico que tiene sobre la piel, rompiendo los puentes de hidrógeno, formando enlaces más fuertes y haciendo que las proteínas se vuelvan solubles. En el calero también se produce una hidrólisis de grupos peptídicos ($-\text{CO}-\text{NH}-$), forman grupos y hacen que los

curtientes reaccionen posteriormente mejor con la piel (Gavilanes, 2011). En la Figura 1, se representa un hinchamiento liotrópico

Figura 1. Ruptura de puentes de hidrogeno por hinchamiento liotrópico de la piel de bovino



Fuente: Covington, 2001

2.1.2.2 El hinchamiento osmótico. Se produce cuando la piel se sumerge en disoluciones de ácidos o álcalis minerales comprendidas entre 0,1 y 1 M, tipo HCl o NaOH, y en ausencia de sales neutras. La piel bovina se hincha gradualmente con el aumento del tiempo de encalado, hasta el equilibrio entre la solución y la piel bovina interna y, como resultado, aumenta el espacio entre las fibras colágenas y el folículo piloso de la epidermis (Liu, et al., 2019).

2.2 COLÁGENO

El colágeno es una proteína biodegradable y biocompatible que se encuentra principalmente en el tejido conectivo (Zhang, Ortiz, Goyal y Kohn, 2019), es el principal biopolímero en los organismos vivos y es el componente principal de la piel y los huesos (Berg, Tymoczko y Stryer, citado en Włodarczyk M, Kubisz, Mielcarek y Włodarczyk D, 2017). El colágeno es una proteína estructural que tiene tres cadenas α entrelazadas y la estabilidad a la estructura de triple hélice es

proporcionada por puentes de hidrógeno entre cadenas. También hay regiones terminales muy cortas, llamadas telopeptidos, que no forman estructuras triples helicoidales, donde la fijación intermolecular se produce principalmente mediante reticulaciones de lisina y hidroxilisina. Existen diferentes tipos de colágeno; el colágeno tipo I, que se encuentra principalmente en el tejido conectivo, como la piel, los huesos y los tendones, es único en la formación de una súper estructura triple helicoidal que consta de tres cadenas polipeptídicas helicoidales α (tamaño similar). La cadena de colágeno también se caracteriza por la repetición de Gly-X-Y, siendo las posiciones Y y X ocupadas principalmente por Hidroxiprolina y Prolina, respectivamente (Ahmad, et al., 2017).

El número de enlaces covalentes que se establecen entre estas cadenas aumenta con la edad del animal (el menor número de enlaces en las pieles de animales más jóvenes). Estos enlaces influyen en las propiedades moleculares de la gelatina. La conversión del tropo-colágeno en gelatina requiere de la ruptura de los enlaces de hidrógeno que estabilizan la hélice, transformándola en la configuración al azar de la gelatina. El producto hidrolizado depende de los enlaces cruzados que queden entre las cadenas peptídicas y de los grupos reactivos terminales aminos y carboxilo libres que se formen. Dado que las tres cadenas no son idénticas, después de la degradación resultan tres tipos básicos de nuevas cadenas: las cadenas alfa, compuestas de una sola cadena peptídica, las cadenas beta, formadas por dos cadenas peptídicas conectadas, y las cadenas gama, con tres cadenas peptídicas interconectadas; por ello, una muestra de gelatina tiene varios pesos moleculares. La gelatina, la forma desnaturalizada del colágeno, ha sido ampliamente utilizada en la industria alimentaria, farmacéutica, fotografía y en otras aplicaciones técnicas (Kaewruang, et al., 2013).

El colágeno se considera un elemento estructural de gran importancia en los seres vivos, siendo la proteína más abundante en los animales superiores, representa aproximadamente 1/3 de todas las proteínas del cuerpo. Está formado por muchas

moléculas de aminoácidos, se pueden destacar tres principalmente: la glicina, prolina e hidroxiprolina.

El colágeno se caracteriza por sus diversos tipos:

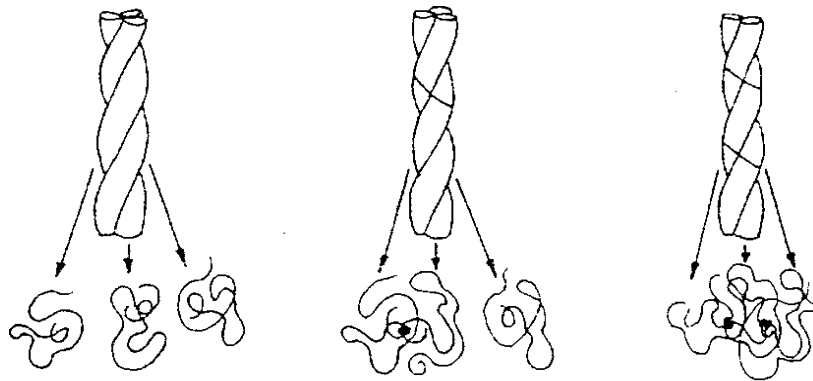
- a. Colágeno tipo I
- b. Colágeno tipo II
- c. Colágeno tipo III
- d. Colágeno tipo IV y V

Para esta investigación se hará énfasis en el colágeno tipo I, como lo menciona Jordán y Núñez (2011) este tipo de colágeno predomina en los huesos, en los cartílagos y en la dermis.

2.2.1 Desnaturalización. El colágeno es una proteína susceptible al calor y/o a condiciones extremas que puede inducir el colapso de la triple hélice, lo que resulta en la desnaturalización del colágeno en gelatina (Liu, Tian, Li, C. y Li. G, 2014). En la conversión de colágeno a gelatina, la estructura de triple hélice se desintegra por la destrucción de los enlaces de hidrógeno y los enlaces hidrófobos, las cadenas se desdobl原因, como resultado ocurre una disociación de las moléculas en componentes más pequeños. La estructura molecular de estos componentes más pequeños diferirá según la edad, el origen del subproducto y de los pretratamientos. Durante esta conversión de colágeno a gelatina, los enlaces peptídicos se rompen. Cuando se usa un pretratamiento, por el cual los enlaces cruzados covalentes permanecen intactos, la hidrólisis de los enlaces peptídicos es el único mecanismo para romperlos, de esta manera las moléculas de gelatina tendrán una estructura más ramificada. El grado de ramificación dependerá de la edad de los animales y del origen: el colágeno de los animales más jóvenes tendrá menos enlaces cruzados covalentes que el de los animales viejos (Grobber, Goedknecht y. Steele, 2003).

La desnaturalización del colágeno puede ser térmica, química y enzimática; en ambos casos se desmorona la estructura rígida de la protofibrilla y se transforma en una mezcla compleja de cadenas polipeptídicas flexibles en forma de ovillo, como se muestra en la figura 2.

Figura 2. Representación de la desnaturalización del colágeno.



Fuente: Covington, 2011

2.3 ETAPAS PREVIAS A LA OBTENCIÓN DE LOS RESIDUOS EN EL PROCESO DE CURTIDO

2.3.1 Recepción de pieles crudas. En esta primera operación se verifica la calidad de las pieles, evaluándolas sobre el lugar de procedencia del animal, estas se clasifican en pieles que provienen de clima frío y pieles que provienen de clima caliente, debido a la influencia del clima en las características físicas ya que en los climas cálidos se presentan animales parasitarios como la garrapata que afectan la calidad final del cuero (Covington, 2011).

2.3.2 Remojo. Las pieles se limpian con agua de toda materia extraña como tierra, sangre, estiércol, etc. En el caso de las pieles saladas se debe eliminar la mayor cantidad de sal proveniente de la conservación. Esta etapa también contribuye a brindarle la humedad perdida y con ello recuperar su original flexibilidad, morbidez y plenitud (Saldarriaga y Michele., s.f). El principal objetivo es preparar la piel para que acepten los diversos agentes químicos y no químicos que se añadirán en las siguientes etapas.

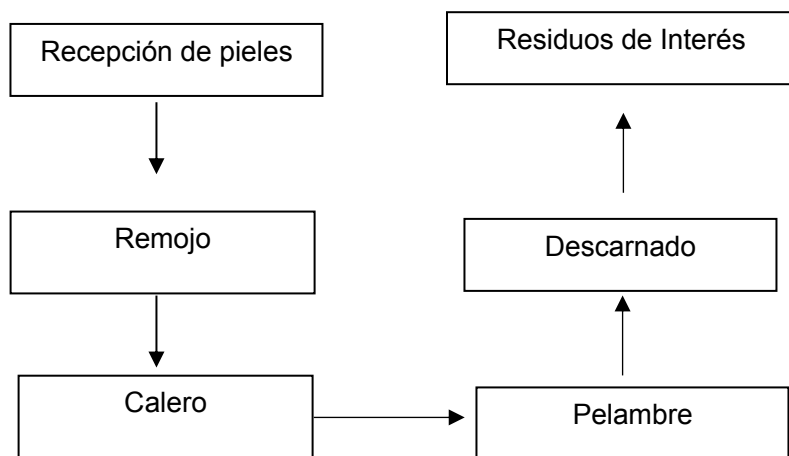
2.3.3 Calero. El calero consiste en poner en contacto los productos alcalinos como $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (el de mayor concentración), Na_2S , NaHS , disueltos en agua con la piel (Covington, 2011). La cal tiene dos importantes efectos físicos: hinchamiento osmótico e hinchamiento liotrópico. El resultado de esta operación es que la piel se hincha y se empapa de agua, lo que abre la fibra y permite la completa penetración de los curtientes (CAR/PL, 2000).

2.3.4 Pelambre. El pelambre requiere mezclar las pieles o cueros con varios productos químicos alcalinos para que ataquen las queratinas, las disuelvan, y se produzca un ligero hinchamiento, en este proceso se elimina la epidermis y el pelo (CAR/PL, 2000).

2.3.5 Descarnado. La grasa y los tejidos que están adheridos a la parte interna de la piel deben eliminarse para los agentes químicos penetren mejor en las siguientes etapas. Este proceso se realiza con una máquina de descarnar o con cuchilla. Durante este proceso se obtienen residuos tales como grasa, carne y piezas de piel que no cumplen con criterios para continuar con el proceso de curtiembre (CAR/PL, 2000).

En la figura 3, se da a conocer de manera gráfica las etapas por las cuales pasa la piel en el proceso de curtido antes de la generación del subproducto objeto de estudio.

Figura 3. Diagrama de bloques de obtención de residuos a partir de la piel de bovino

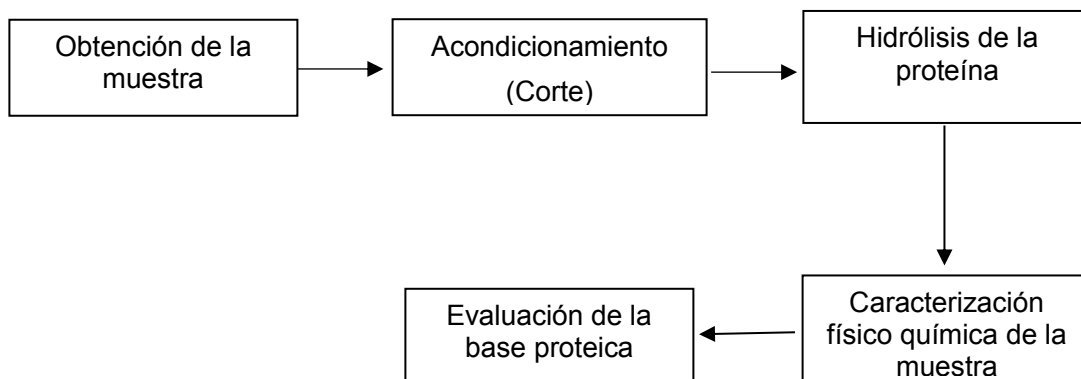


Fuente: Covington, 2011

2.4 PROCESO DE OBTENCIÓN DE LA BASE PROTEICA

En la figura 4 se presentan las operaciones llevadas a cabo en la obtención de la base proteica, se tuvo en cuenta los siguientes procesos físicos y químicos, se aplicaron métodos que fueran afines a la disponibilidad de equipos y materiales para el desarrollo de los diferentes procedimientos

Figura 4. Diagrama de bloques para la obtención de la base proteica



Fuente: Elaboración propia, 2019

Como se mencionó anteriormente la materia prima se obtiene en la última etapa del proceso de descarnado, posterior a ello se somete a una serie de procedimientos con el fin de obtener el material en cuestión para su análisis final.

2.4.1 Corte. La piel ingresa depilada, inicialmente se corta por separado en cuadros de 2 x 2 cm y se lava con agua tratada mediante acción física de golpeo (Ortiz y Martínez, 2009).

2.4.2 Hidrólisis de colágeno. Cuando las proteínas se someten a tratamiento térmico con ácidos o bases; o cuando existe acción de ciertas enzimas, sus moléculas se hidrolizan formando aminoácidos. Los hidrolizados proteínicos parciales provienen de la hidrólisis de proteínas de origen natural mediante procesos dando lugar a una mezcla de

péptidos y aminoácidos (Zambrano, citado por Hidalgo, 2016). A continuación se describen diversos procesos de hidrolisis para la obtención de la proteína a partir de los subproductos de la piel de bovino:

2.4. 2.1 Hidrólisis acida. Según la literatura hallada; para la obtención de la base proteica se proponen diversos métodos químicos. Entre ellos se encuentran los métodos más usuales de hidrólisis ácida que utilizan HCl 6M a temperaturas de 110°C y en atmósfera de N₂ por 22 a 24 h. No obstante, la selección final dependerá del aminoácido que se desee aislar en mayor cantidad (González, 1998). Sin embargo este método destruye completamente el triptófano y parte de la serina y la treonina (Jordán y Núñez, 2011). Como lo menciona Goldnik, (1983) quien en su estudio trató la piel de bovino hidrolizando a 110°C con HCl 6M, conteniendo algo de NaH₃PO₄ en atmósfera de nitrógeno, con el objetivo de aislar aminoácidos en el desecho obtenido de la piel de bovino en las tenerías, obteniendo así una hidrólisis de 85%. El hidrolizado fue cromatografiado, usando un buffer de Citratos

a un pH 3.3, obteniendo una fracción que contenía hidroxiprolina, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutámico, prolina, glicina y alanina (González, 1998).

2.4.2.2 Hidrólisis básica. La excepción del anterior no se destruyen los aminoácidos, pero con gran facilidad forma racematos. Normalmente se utiliza (NaOH e BaOH) (Hidalgo, 2016).

2.4.2.3 Hidrólisis enzimática. Por lo general se utilizan enzimas proteolíticas cuya actividad es lenta y a menudo incompleta, no se destruyen aminoácidos. Esta hidrólisis proteica se realiza normalmente en un reactor con control de agitación; pH, temperatura y tiempo de proceso (Hidalgo, 2016).

2.4.2.4 Hidrólisis térmica. La temperatura de desnaturalización es un parámetro particularmente importante, según el origen del colágeno y el nivel de hidratación. La temperatura de la desnaturalización del colágeno depende del contenido de agua, el grado de reticulación y el contenido de hidroxiprolina. El agua unida parece tener una importancia fundamental para la comprensión de las propiedades fisicoquímicas, estructurales y biológicas de los biopolímeros, en particular de las proteínas (Włodarczyk, et al., 2017). Al ser el colágeno una proteína esta se desnaturaliza perdiendo su estructura cuando la temperatura se incrementa. En este proceso, el colágeno se descompone en pequeños fragmentos por hidrólisis térmica (Grobbe et al., 2003). es un proceso económico y limpio teniendo en cuenta que no se usan bases ni ácidos adicionales al tratamiento.

2.5 CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES DE LA BASE PROTEICA

La importancia de producir materias primas para la elaboración de alimentos balanceados radica en la utilización de subproductos de las industrias agrícolas y pecuarias generando aprovechamiento e innovación tecnológica que le aporte al

país nuevas alternativas de desarrollo económico para la industria de los alimentos balanceados y con ello se disminuye la importación de las mismas y por ende el costo de estos productos se vería reflejado positivamente en el bolsillo de los colombianos haciendo más fácil el acceso a este tipo de productos que hoy resultan siendo muy costosos para los pequeños productores, así como también se incentiva a la investigación de este tipo de subproductos del sector de las curtiembres que genera una cantidad considerable de residuos que poseen propiedades nutricionales útiles para la alimentación animal tal como lo indica la literatura.

En la tabla 1 se presentan las características físicas de las harinas de las tenerías obtenidas de la carnaza de la piel de ganado bovino.

Tabla 1. Características físicas de las harinas de tenería.

Color	Blanco
Tamaño de partícula	2mm
Densidad	0,3604g/m

Fuente: Valor nutricional de subproductos de piel de bovino e identificación de sus aminoácidos. González, (1998).

Según la Underutilized Resources as Animal Feedstuffs (1983), los desechos de las tenerías que corresponden a las carnazas poseen 64% de agua, 33% de Proteína, 2% de grasa y 0.5% de minerales (Ca y P). Además la proteína corresponde a 87.8% de colágeno, 6.1% de Keratina y 5.2% de proteína no estructural como albúmina y globulina y un 0.9% a elastina (Gonzales, 1998). Con este subproducto se pueden producir harinas con un alto contenido de proteínas, debido a que en el análisis proximal realizado por Gonzales (1998), encontró que su contenido de proteína es de 77.61%. En la tabla 2 se observa una comparación en cuanto su contenido nutricional de ésta harina de subproducto de tenería con otras harinas que son fuentes importantes para la elaboración de dietas para ganad bovino

Tabla 2 Comparación nutricional de harinas obtenidas de subproductos.

Ingredientes	% Proteína	% Ceniza	%Fibra	% Grasa	% M. seca	Dig. Ruminal
Harina de sangre	80	4,4	1	1	89,3	63,1
Harina de hueso y carne	50	3,3	2,8	8,5	92,6	39,5
Harina de plumas	85	3,9	1,5	2,5	93,2	70
Harina de carnaza	77,61	8,04	9	8,07	94,6	80,49

Fuente: Feedstuffs ingredient analysis. Allen (citado por González, 1998).

Con estos datos reportados por Gonzales (1998) se puede notar la potencial ventaja de producir alimentos balanceados, pues la materia prima está disponible a un bajo costo y el rendimiento que trae consigo la obtención de la harina y los hidrolizados de colágeno para animales de engorde y lecheros, sobretodo el utilizar subproductos que no se les da un valor agregado y que generalmente terminan en un relleno sanitario como es el caso de este subproducto, además se contribuye a mitigar la contaminación ambiental y a generar un recurso económico más para las industrias que se dedican a esta actividad reflejándose en la rentabilidad de las mismas.

2.5.1 Digestibilidad de la harina de carnaza. Para Stein et al. (2007) la digestibilidad es la base de las metodologías de evaluación de los alimentos, por definición, es la fracción de alimento consumido que no aparece en las heces y por lo tanto se absorbe en el tracto gastrointestinal (Osorio, Giraldo y Narváez, 2012), así también lo define Harmon (2007) la digestibilidad sirve como una medida para determinar la calidad de la dieta y de las materias primas utilizadas en ella, la disponibilidad de los nutrientes que las constituyen, la importancia que tienen estos en la salud de los animales, su desempeño y las características de las heces,

además sirve como soporte para el cálculo de los requerimientos nutricionales. De igual forma se diferencian entre digestibilidad aparente y la verdadera, la primera no incluye los aportes metabólicos y endógenos provenientes de enzimas, células epiteliales, células microbiales, metabolitos, entre otros, que llegan a la luz intestinal y son excretados en las heces, mientras que en la digestibilidad verdadera estas fracciones de origen metabólico y endógeno se descuentan de la fracción excretada en las heces para la realización de los cálculos. Para determinar el coeficiente de digestibilidad de un nutriente en un alimento existen métodos *in vivo* directos como la recolección total de heces, indirectos cuando se usan indicadores; métodos *in situ* como la canulación ileal y finalmente los métodos *in vitro* en los cuales se usan enzimas y técnicas de fermentación. Los diferentes métodos varían en precisión y mecanismos empleados para determinar los coeficientes de digestibilidad (Osorio, Giraldo y Narváez, 2012).

Según González (1998) las harinas que provienen de las tenerías son básicamente colágeno y presenta el siguiente perfil de aminoácidos: prolina, hidroxiprolina, glicina y alanina. Aunque son deficientes en triptófano y lisina, pueden ser usadas como fuente de aminoácidos para enriquecer alimentos para ganado incluso para uso humano. En la tabla 3 se presentan los valores de disponibilidad de nutrientes que posee el colágeno hidrolizado, que se obtienen de la carnaza de bovino. Las harinas de carnaza consisten en colágeno, por tanto su mercado son los rumiantes, debido a que los monogástricos son más exigentes en cuanto a la calidad de las proteínas, pues no cuentan con los microorganismos del rumen (Sagarpa, citado en Luna, 2017).

Los datos que se presentan en la tabla 3, se obtuvieron al realizar la técnica *in situ* de la bolsa de nylon (10 x 20 cm y tamaño de poro de 53 μ) a 0, 4, 8, 12, 24 y 48 h de incubación para posteriormente sumergirlas en el líquido ruminal y de esta forma determinar su digestibilidad (Luna, 2017).

Tabla 3. Análisis químico de la harina de carnaza

Nutriente	Cantidad %
Proteína cruda	70% min
Digestibilidad de la proteína	80% min
Proteína de sobrepaso Ruminal	60%min
Fibra cruda	1.50%max
Cenizas	20% max
Humedad	10% max

Fuente: Pruebas de digestibilidad In situ de alimentos no convencionales para ganado bovino. Apelsa (citado por Luna, 2017).

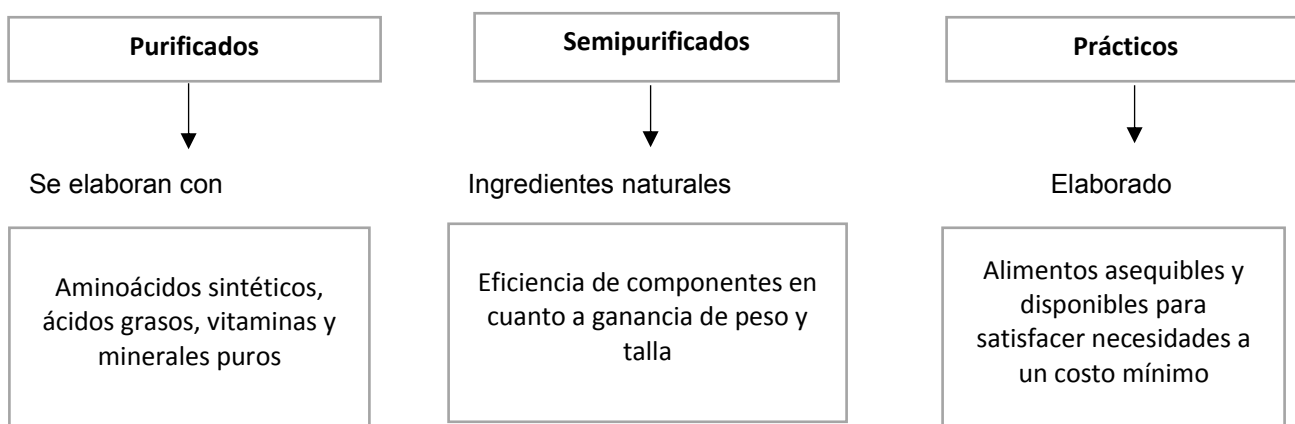
2.6 ALIMENTOS BALANCEADOS.

Según lo citado por Maya y Henao (2016) los alimentos balanceados para animales son mezclas de ingredientes elaborados en forma tal que respondan a requerimientos nutricionales para cada especie, edad, estado productivo y tipo de explotación a que se destina el animal, bien sea suministrándolos como única fuente de alimento o como suplementos o complementos de otras fuentes nutricionales. Generalmente para la elaboración de estos se utilizan fuentes proteicas que provienen de harina de sangre, de huesos, de pescado y de vegetales como la soya, frijol, arroz maíz entre otras.

La formulación del alimento generalmente involucra múltiples propósitos, además de minimizar el costo del alimento mientras se satisfacen los requerimientos nutricionales. Así también se puede en gran medida reducir el costo en la formulación del alimento sin afectar seriamente el crecimiento del animal (Uyeh, et al., 2019) y para lograrlo se requiere de estudios como estos, para generar alternativas, y de esta forma brindar un valor agregado a los subproductos provenientes de la industria curtiembre.

2.6.1 Clasificación de alimentos balanceados El sector de alimentos para animales se ha convertido en una actividad intermedia entre la agroindustria y la actividad pecuaria. Para la elaboración de estos alimentos balanceados se utilizan materias primas que provienen tanto del sector agrícola como pecuario. En la figura 5 se observa su composición:

Figura 5. Composición y clasificación de los alimentos balanceados

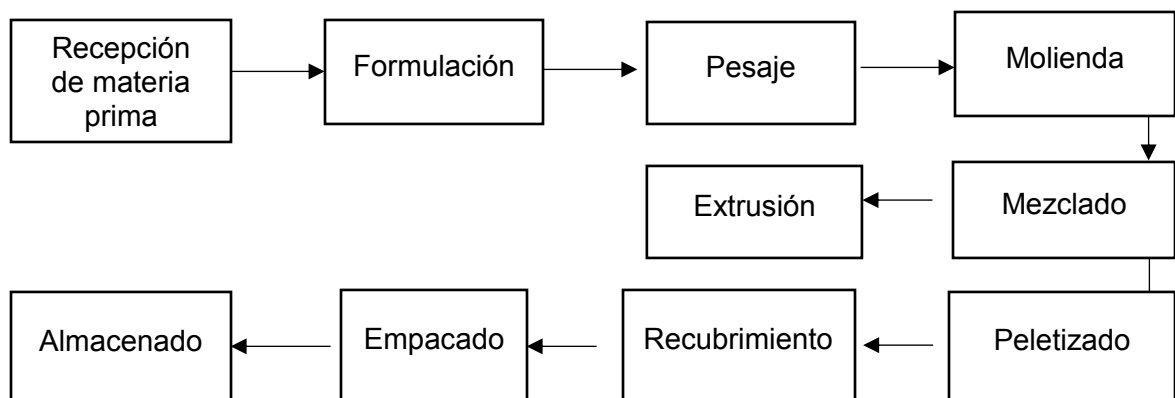


Fuente: Adaptado de Alimentos para animales en Colombia. Legixcomes.com (2016).

Con el paso de los años, la industria de los alimentos balanceados para animales se ha caracterizado por ser activa y estable, sin embargo, cabe resaltar que su producción varía de acuerdo al PIB de cada país. Según información del Departamento Nacional de Planeación (DNP) para elaborar alimentos balanceados para animales se requiere de dos componentes: la macromezcla y la micro mezcla. La primera está compuesta por productos de la agricultura y la agroindustria, los cuales se encuentran clasificados en fuentes de energía (cereales forrajeros) y de proteína (oleaginosas). A la mezcla básica obtenida se le adicionan medicinas, vitaminas, minerales y colorantes (micromezcla) con una mezcladora tipo concreto (Legiscomex.com, 2016).

2.6.2 Proceso de manufactura de los alimentos balanceados. Para la elaboración de un alimento balanceado se debe tener en cuenta la condición de la maquinaria y equipos, los ingredientes y las condiciones de mezclado. A continuación, se describen cada una de las operaciones involucradas en los procesos de manufactura de un alimento balanceado para animales:

Figura 6. Diagrama de bloques para la obtención de alimento balanceado.



Fuente: adaptado de Mann, (2010). Desarrollo y nutrición animal s.a. El alimento balanceado: De fabricación en planta de alimentos al consumo en granjas.

2.6.2.1 Recepción de materia prima. Aceptación o rechazo de ingredientes (sólidos o líquidos) que cumplan con los estándares de calidad previamente establecidos.

2.6.2.2 Formulación. En esta operación se determina la cantidad de ingredientes que tendrá la dieta para cumplir con el requerimiento nutricional.

2.6.2.3 Pesaje. Determina el rendimiento del producto al final del proceso.

2.6.2.4 Molienda. Según el tamaño de las partículas se reducirá por medio mecánico el tamaño del ingrediente. En esta etapa se tendrá en cuenta la variable humedad relativa. Con el molino se pretende conseguir la granulometría adecuada de las partículas en tamaño y forma según la presentación del alimento terminado: harina o peletizado (granulado) (Mann, 2010).

2.6.2.5 Mezclado. En una mezcladora se introducen las materias primas con el fin de ser homogenizadas durante un tiempo.

2.6.2.6 Peletización. En este proceso la mezcla recibe una precocción y se le da forma cilíndrica.

2.6.2.7 Extrusión. Incluye un proceso de cocción a alta temperatura y presión (HTST) en un periodo de tiempo reducido (0,08- 0,16min), por tanto, este tipo de alimentos mejora la digestibilidad inactiva de factores anti-nutritivos, e incluso permite elaborar dietas que flotan en el agua.

2.6.2.8 Recubrimiento. En esta etapa se agrega melaza a la mezcla, con el fin de aumentar su palatabilidad.

2.6.2.9 Empacado. El alimento se pesa según exigencias del cliente. El producto se descarga por gravedad directamente en el saco plástico.

2.6.2.10 Almacenado. Se almacenan los sacos con el producto terminado, para ser distribuidos a los diferentes lugares para su venta.

2.6.3 Producción de alimentos balanceados a nivel mundial y nacional. La producción total de alimentos balanceados según ALLTECH (2017) rompió el marcador de los mil millones (toneladas métricas), incluso con menos fábricas de alimento comparado con años anteriores. Un aumento de 3.7% en la producción sobre el 2017 ocurrió a pesar de una disminución del 7% en el número de plantas

de alimento balanceado. Si bien esta consolidación es especialmente notable en China, también disminuyeron marcadamente sus números de plantas de alimento balanceado. Cabe aclarar entonces que China y Estados Unidos han dominado las dos primeras posiciones en el ranking nacional de ALLTECH desde su inicio.

Tabla 4. Producción de alimentos a nivel mundial, 2017

Continente	Producción (Ton)	%
África	36.130.000,00	3,63
América del Norte	194.080.000,00	19,49
América Central	36.040.000,00	3,62
América del Sur	113.254.000,00	11,38
Caribe	3.040.000,00	0,31
Asia	350.410.000,00	35,2
Europa	240.620.000,00	24,17
Oceanía	21.996.000,00	2,21
Total	995.570.000,00	100,01

Fuente: ALLTECH, 2017

Según datos actuales entregados por la Encuesta Global Anual sobre Alimento Balanceado de ALLTECH, (2019) hace dos años, la industria de alimento balanceado cruzó el umbral de 1000 millones de toneladas métricas, y se espera una trayectoria ascendente mientras la población siga creciendo, especialmente la clase media, que cada vez más está mostrando interés en el consumo de proteínas. En general, la industria de alimento balanceado vio un fuerte crecimiento del 3 % el año pasado, alcanzando 1103 millones de toneladas métricas, como se puede ver en la figura 7.

Figura 7. Tasa de crecimiento de los alimentos balanceados en el mundo



Fuente: ALLTECH, 2019

Todos los números están expresados en millones de toneladas métricas, a menos que se indique lo contrario.

Para el caso de la producción de alimento balanceado para cerdos experimentó un aumento de alrededor el 1% en el 2018. La principal región productora de alimento balanceado para cerdos es Asia-Pacífico, pero, curiosamente, esta también fue la única región que registró una disminución en la producción de alimento balanceado para cerdos. Mongolia, Vietnam, China, Nueva Zelanda y Japón experimentaron disminuciones en la producción de alimento balanceado para cerdos, lo que contribuyó a la caída general. Desde el punto de vista del tonelaje, Europa registró el mayor crecimiento en la producción de alimento balanceado para cerdos, con aproximadamente 2.2 millones de toneladas métricas. Rusia y España son casi los encargados de todo esto, pero otros países, incluyendo Finlandia, Dinamarca, Francia y Polonia, también contribuyeron. América Latina mostró el mayor crecimiento en la producción de alimento balanceado para cerdos en un porcentaje del 5%, con un mayor aumento observado en México y Argentina.

En Colombia según la ANDI, la gran mayoría de las materias primas utilizadas para la manufactura de los alimentos balanceados son importadas, aproximadamente el 90% y el 10% corresponde a la producción nacional. De acuerdo con esta

información, generar alternativas de producción o la utilización de subproductos de la industria de alimentos, pesquera, curtiembre, entre otras, generaría expectativas de desarrollo de nuevas fuentes de producción para este tipo de bienes.

La industria de alimentos balanceados para la alimentación animal es el eslabón agroindustrial en la cadena del sector pecuario que se encarga de convertir las materias primas de origen agrícola como sorgo, maíz amarillo, yuca industrial y soya, así como subproductos de la industria azucarera como melazas y de la molinería como los salvados y mogollas de trigo, maíz y arroz, en alimento para la producción de carne de pollo y cerdo, huevo, leche, quesos y otros derivados lácteos y embutidos entre otros. Estos alimentos no solo son importantes en términos del gasto, sino también en términos nutricionales, ya que algunos de estos alimentos son la fuente primaria de proteína animal que requiere el organismo para su normal desarrollo

La producción de alimentos balanceados para animales en Colombia se distribuye en seis grandes sectores, a saber: Aves con el 64.3%, porcinos con el 15.5%, y vacunos con el 11%. El porcentaje restante se distribuye entre la producción de alimentos para perros y gatos, peces, equinos, conejos y preparaciones especiales para la cadena porcina. Lo anterior debido principalmente a que una parte importante de las actividades de la cadena porcina son realizadas de manera artesanal y no incorporan alimentos balanceados a su producción (AGROCADENAS, 2005). De acuerdo con estimaciones de la cámara de industria en 2015 se produjeron en Colombia 7,18% millones de toneladas de alimento balanceado, un incremento del 6% frente al año anterior, tal como se observa en la tabla 5:

Tabla 5. Producción de alimentos balanceados en Colombia

Líneas de producción	Toneladas						Var.
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	15/14
Avicultura	3.936.509	4.086.096	4.167.818	4.313.69	4.555.258	4.783.021	11,60%
Porcicultura	685.844	757.172	830.000	849.920	913.664	1.019.419	4,10%
Ganadería	516.650	526.983	568.614	595.583	653.851	680.334	9,70%
Menores	278.352	300.621	345.714	402.991	453.515	497.293	0,80%
Piscicultura	133.823	120.441	142.120	177.416	202.145	203.722	6,00%
Total	5.551.178	5.791.313	6.054.266	6.339.60	6.778.433	7.183.789	
variación	3,90%	4,30%	4,50%	4,70%	6,90%	6%	

Fuente: Cálculos de la cámara de la industria de alimentos balanceados a partir de la información de la ANDI a partir de información DANE, DIAN y crecimiento reportado por FENAVI y ASOPORCICULTORES (2015).

3. METODOLOGÍA

Se utilizó como materia prima para la obtención de la base proteica el subproducto de la etapa de descarte del proceso de curtido, el cual fue suministrado por la empresa COOPMICROCUEROS LTDA del municipio de Belén Nariño.

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Una vez obtenida la muestra y siguiendo la metodología de Ortiz (2009), este subproducto se lavó durante 15 minutos con agua potable, seguidamente se retiró de forma manual los trozos de grasa con un cuchillo. La materia prima se fraccionó en trozos de 2 cm² de área superficial aproximadamente, la otra cantidad se sometió a molienda en un molino semiindustrial para carnes (Ferton MLCO 12) con disco número 12. Se tomó una pequeña muestra y se procedió a realizar el análisis fisicoquímico al residuo biológico, como se menciona a continuación:

3.1.1 Análisis químico. El análisis químico de la materia prima fue realizado en el laboratorio de la universidad del Cauca

3.1.1.1 Determinación del contenido de proteína. Para este análisis se hizo uso del método Kjeldahl: Determinación de nitrógeno de productos que no contienen nitratos (Pico, 2012).

3.1.1.2 Determinación del contenido de humedad. Para este análisis se utilizó, el método de secado en estufa, en el que el contenido de humedad se determina a partir del cambio de peso de la muestra después de la evaporación del agua absorbida en el horno (Austin, Rodríguez, Sung y Harris, 2013).

3.1.1.3 Determinación de grasa. El contenido de grasa se determinó por el método extracto etéreo: método 920.39/90 de la AOAC (AOAC, 1990).

3.1.1.4 Determinación de cenizas. Se realizó siguiendo el método determinación de cenizas totales, método general citado por Picó (2012).

3.1.1.5 Determinación de pH. Para determinar el pH la materia prima, se preparó la muestra y luego se utilizó un pH-metro Oakton Acorn, modelo WD-35613-72.

3.2 TRATAMIENTO TÉRMICO

Para la obtención de la base proteica se tomó primero el peso de las muestras (200g), por consiguiente, se aplicaron los respectivos tratamientos térmicos. Estos se realizaron en dos niveles de temperatura 70 y 90°C, durante periodos de tiempo de 2 y 4 horas para cada muestra. Según pruebas preliminares se determinó que el tratamiento que presenta mejores resultados en cuanto a extracción es el molido, en efecto estas muestras se tuvieron en cuenta para la determinación del grado de hidrólisis y la digestibilidad, así como también para el análisis estadístico. Ya extraída la base proteica, se llevó a secado constante en un secador por convección MOVE 4516 como actividad adicional a los tratamientos aplicados para su posterior análisis.

3.3 HIDRÓLISIS DE LA PROTEÍNA

El grado de hidrólisis o GH se determinó en cada experimento utilizando el método de ortoparafenilaldehído o método de OPA, el cual consiste en hacer reaccionar los aminoácidos de las cadenas peptídicas con el reactivo de ortoparafenilaldehído en presencia de mercaptoetanol y condiciones alcalinas generando derivados o compuestos con un máximo de absorbancia de 340 nm (Spellman, Mcevo, Ocuinn

y Fitzgerald, 2003; Zacharis y Tzanavaras, 2013) Para determinar la concentración de las muestras se realizó el método de curva de calibración, para ello se prepararon patrones de leucina a diferente concentración, en un rango de concentración entre 6 y 21 ppm, a cada patrón se les adicionó el reactivo de OPA y se llevaron a lectura en un espectrofotómetro UV-1800 Shimadzu, a una longitud de onda de 341 nm, el grado de hidrólisis se calculó mediante la siguiente ecuación 1:

$$GH = \frac{h}{ht} * 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Dónde:

h: total de mEq leucina en la muestra hidrolizada

ht: la cantidad de mEq de leucina en la muestra totalmente hidrolizada (Suwal, Roblet, Amiot y Bazinet, 2015).

3.4 DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA

La digestibilidad de las proteínas se evaluó mediante el método in vitro empleando pepsina y pancreatina (Akeson & Stahmann, 1964). El contenido de nitrógeno de la muestra y el residuo no digerido se determinó por el método micro-Kjeldahl (AOAC, 1980). La proteína digerida de la muestra se calculó mediante la ecuación 2 (Jood, Chauhan, & Kapoor, 1987).

$$\% \text{ digestibilidad de proteina} = \frac{\text{proteina digerida}}{\text{total de proteina}} * 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

La muestra se extrajo con pepsina-HCl a pH 1,35 y posteriormente el pH se ajustó a pH 7,5 y se filtró. El hierro ionizable fue determinado en el filtrado por el método a-a-dipiridilo. El porcentaje de biodisponibilidad de hierro se predice usando la siguiente ecuación de regresión; $Y = 0.4827 + 0.4707X$, donde Y es el porcentaje de hierro disponible y X es el porcentaje de hierro ionizable. El calcio fue analizado por precipitación como oxalato de calcio y valoración posterior por permanganato de potasio (AOAC, 1990). La biodisponibilidad in vitro de calcio se determinó

mediante una digestión gastrointestinal simulada usando pepsina para la etapa gástrica seguida de pepsina y sales biliares para la etapa intestinal. El contenido de calcio difundido a través de una membrana semipermeable se determinó mediante el método de precipitación y valoración (AOAC, 1990). El fósforo fue estimado colorimétricamente por Taussky y Shorr (1953). El método enzimático de Batey y Ryde (1982) se utilizó para el análisis de almidón total. La digestibilidad *in vitro* del almidón se determinó mediante la modificación del método de Kumar y Venkataramann (1976), utilizando un kit enzimático de glucosa oxidasa peroxidasa en lugar de reactivo dinitrosalicílico. La Glucosa se utilizó como estándar y el grado de hidrólisis fue expresado como mg de glucosa liberada de las muestras después de la corrección de los valores en blanco, y el porcentaje de digestibilidad *in vitro* del almidón se calculó sobre la base del contenido total de almidón utilizando la siguiente ecuación; glucosa liberada (g) $0.9 \times 100 / \text{g de almidón total}$ (Akeson & Stahmann, 1964 y Ghavidel & Prakash, 2007).

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO

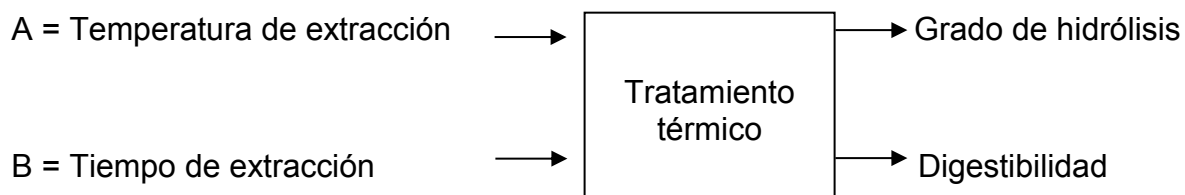
Para la obtención de la base proteica se aplicaron dos tratamientos térmicos diferentes. Las variables independientes (factores) fueron la temperatura (70 y 90°C) denominada A y el tiempo de exposición (2 y 4 horas) denominado B como se observa en la tabla 6, por consiguiente las variables dependientes a evaluar que se plantearon para el estudio fueron: el tamaño de la proteína representada por el grado de hidrólisis y la digestibilidad de la base proteica obtenida, tal como se observa en la figura 8.

Tabla 6. Variables de entrada

FACTOR		-1	1
A	Temperatura	70°C	90°C
B	tiempo	2h	4h

Fuente: Elaboración propia, 2019

Figura 8. Variables de estudio



Fuente: Elaboración propia, 2019

3.5.1 Diseño factorial. Una vez identificadas la cantidad de muestras a evaluar se planteó el diseño factorial 2^2 del cual se determinaron 4 corridas experimentales con sus respectivos niveles, como se muestra en la tabla 7, El diseño de experimentos factorial 2^2 permite determinar la efectividad de los experimentos. Mediante este diseño factorial se estudiaron los efectos principales con las respectivas interacciones, así como también se determinaron los niveles adecuados de ambas variables, para el producto final (base proteica).

Tabla 7. Diseño factorial 2^2

N. Tratamientos	Notación	Niveles	
		A	B
1	(1)	-1	-1
2	a	+1	-1
3	b	-1	+1
4	ab	+1	+1

Fuente: Elaboración propia, 2019

3.5.2 Análisis estadístico. Los ensayos para cada tratamiento se realizaron por duplicado. Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA), expresados como el promedio con la desviación estándar, obteniendo las diferencias significativas entre los resultados para el presente estudio, mediante el software STATGRAPHICS Centurión XVII Versión 17.2.07 (64-bits), con un intervalo de confianza de 95% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS QUÍMICO DE LA MATERIA PRIMA

En la tabla 8 se observan los resultados obtenidos al realizar la caracterización química de la materia prima, estos datos se toman del promedio de las muestras por triplicado. (ver Anexo 1)

Tabla 8. Caracterización química del residuo sólido

Composición proximal	%
Proteína	27,3
Humedad	70,9
Grasa	1,4
Cenizas	0,4
Total	100,0
pH	10,4

La piel de ganado bovino en su composición contiene colágeno el cual forma parte de la familia de las proteínas fibrosas. Particularmente el colágeno tipo I es el componente más abundante en la piel, tendón y hueso. Al realizar el análisis se obtuvo un porcentaje promedio de proteínas de 27,3%, la literatura reporta valores próximos a los hallados en el estudio. Por ejemplo, Colorado et al. (2013) y Moreja (2007) mencionan valores de proteína de 33% para piel bovina recién desollada. Haciendo un contraste con la gelatina comercial y/o colágeno hidrolizado cuando la piel se somete a procesos de hidrólisis se obtiene valores de proteína más altos. De esta manera Aykın, Koc y Erba (2017) reportan una composición proximal de 88, 45

% de proteína; valor obtenido para gelatina comercial de bovino, mientras que Talapphet, Prommajak y Patcharin (2017) hallaron valores cercanos a 79,02% de proteína para piel de bovino, por su parte Prestes et al. 2013; Rousselot, y Gelita, (citado por Vidal et al., 2019) reporta valores de 92,15% en hidrolizados de proteína extraídos de piel bovina y cerdo por hidrólisis química y enzimática. Como se puede observar el contenido de proteína puede variar de acuerdo con el tipo de hidrólisis aplicada, así lo sugieren estudios reportados en este documento, debido a la pérdida de proteínas solubles como las albúminas y las globulinas durante el remojo y el apelmbrado, operaciones que se realizan de antesala para la obtención del residuo en cuestión. Con respecto a la humedad obtenida de 70,9%, presenta un porcentaje alto, en la materia prima, esto debido a que el residuo es el subproducto de un proceso en el que pasa por etapas como remojo, calero, pelambre, descarnado a sustancias alcalinas que favorecen la introducción de agua como el Ca(OH)_2 , pues al combinarse el colágeno con iones OH^- absorbe asimismo una cantidad equivalente de cationes apareciendo un exceso de iones en el colágeno con relación al líquido circundante, es así entonces que el agua tiende a penetrar en la estructura fibrosa aumentando de esta forma el contenido de humedad. Otros estudios reportan valores que oscilan entre 62.91–66.48% (Noorzai, Reinhard, Lay, y Swan, 2019) debido a que la cantidad de agua varía con el estado físico de la piel, tal como la porosidad y la presencia de productos químicos. En cuanto al contenido grasa el valor obtenido de 1,4% es cercanos a los reportados por Ortiz y Martínez en el 2009, no obstante, Noorzai, et al 2019 halló valores alrededor del 12.12%, se observa una diferencia notoria en el contenido de grasa dado que en el acondicionamiento de la materia prima se retiró de forma manual los excesos de grasa. Al realizar el análisis para determinar el contenido de cenizas de la materia prima se obtuvo un valor de 0,4%, mientras que para Noorzai, et al. (2019) el contenido de cenizas varió de 1.34 a 3.16% para piel de bovino. Aykın, et al. (2017) refiere valores de 1.22%. Hoong, Mohammadi, Huda, Ariffina y Karima (2016) y Aykın, et al.(2017) mencionan que se debe a la formación de compuestos orgánicos durante el procedimiento de extracción utilizado, de esta manera el contenido de

cenizas al combinarse los cationes de la base Na^+ con el colágeno, además de la cantidad inicial de cenizas de la piel provenientes de fosfatos, carbonatos, sulfatos, cloruros de sodio, potasio, magnesio y calcio; hierro y azufre, hace que se obtenga en un porcentaje más alto de cenizas.

El pH obtenido de la muestra evaluada es básico (10,4), a causa de los tratamientos previos dentro del proceso de transformación de la piel en cuero, a los que fue sometido el subproducto, no obstante Aykın, et al. (2017) reporta en su estudio un valor proximal de pH de 5,73; las diferencias entre los valores de pH de las muestras evaluadas por los autores y el obtenido para el subproducto objeto de estudio, puede deberse a los diferentes procesos realizados en las primeras etapas de curtido de las pieles o pretratamientos aplicados al material biológico. Este resultado puede ser favorable pues la presencia de compuestos alcalinos, conducen a la descomposición del colágeno. De ahí que el objetivo principal del encalado es romper enlaces cruzados covalentes en el colágeno y así mejorar la eficiencia de la extracción para el caso de procesamiento de gelatina. Además, el proceso alcalino descompone los compuestos no deseados en la materia prima como la grasa (Grobber, Goedknecht y Steele, 2003) de esta manera se puede disminuir el tiempo de extracción, debido a que las moléculas de colágeno necesitaran menos calor y tiempo para su disuasión en componentes más pequeños, lo cual es positivo para la finalidad del estudio.

4.2 OBTENCIÓN DE LA BASE PROTEICA

Los hidrolizados de los subproductos de la piel de ganado bovino fueron obtenidos mediante la aplicación de hidrólisis térmica. Los resultados para el grado de hidrólisis y la digestibilidad se exponen en la tabla 9.

Tabla 9. Combinaciones de factores y las variables respuesta %GH y Digestibilidad para cada tratamiento.

Tratamiento	Factor 1 A: Temp. °C	Factor 2 B: Tiempo(h)	Var Resp. GH %	Digestibilidad proteica (%)
1	70	2	32,80 ± 0.05	70,47±0.01
2	70	4	45,92 ± 0.10	82,29 ± 0.08
3	90	2	39,70 ± 0.08	78,87 ± 0.24
4	90	4	56,50 ± 0.12	85,9 ± 0.14

Fuente: Elaboración propia, 2020

Cuando se aplicaron los tratamientos térmicos preliminares para determinar el rango de las variables de entrada se observó que la temperatura de 70 y 90°C, así como el tiempo de extracción 2 y 4h influían de manera significativa, pues se obtuvo un gel con buenas características. Una vez realizado los ensayos se obtuvieron datos que al ser comparados con la revisión bibliográfica y en relación a las variables de entrada, se comprueba que el grado de conversión del colágeno en la base proteica, depende de los parámetros de procesamiento, tales como la temperatura y tiempo de extracción, así lo menciona Karim y Bhat (2009), de igual forma las condiciones de pretratamiento, las propiedades y el método de conservación de la materia prima de partida son variables determinantes en estos procesos (Johnston, 1990 citado por Zarai, Balti, Mejdoub, Gargouri y Sayari, 2012).

Al aplicar la hidrólisis térmica se observó que la temperatura alta de 90°C el mayor tiempo de extracción (4h), favorecen el grado de hidrólisis, de igual forma se evidencio un gel en mayor proporción y con una buena consistencia en comparación a los otros tratamientos aplicados, estos resultados contrastados con otros estudios lo ratifican, por ejemplo Muralidharan, et al. (2012) extrajo gelatina de la piel de calamar (*Loligo formosana*); obteniendo un rendimiento creciente cuando aumenta la temperatura (80°C) de extracción, como lo muestra en los resultados, el aumento de esta variable proporciona directamente más energía para romper los enlaces que

estabilizan las estructuras de colágeno, así como los enlaces peptídicos de las cadenas, como resultado se puede extraer la mayor cantidad de gelatina a medida que se eleva la temperatura. De esta manera, también lo explica Rochid, Foucat y Renou (citado por Correa y Lopes, 2013) la descomposición de la molécula de colágeno ocurre en dos pasos: El primer paso consiste en romper los enlaces de hidrógeno entre las tres cadenas de polipéptidos, mientras que el segundo paso implica la interrupción de los enlaces intermoleculares de la cadena α . Durante la desnaturalización, la triple hélice de las subunidades de polipéptidos colapsan y muchos enlaces no covalentes, algunos enlaces covalentes inter e intramoleculares (enlaces cruzados) y pocos enlaces peptídicos se rompen, lo que resulta la conversión de la estructura helicoidal en un colágeno más amorfo (Alves y Ferreira, 2002 citado por Correa y Lopes, 2013), estos resultados se evidencian en el estudio pues la viscosidad de la base proteica es baja y difiere a la de gelatina. También, Thiansilakul, Benjakul y Shaidi, (como se citó en Hleap y Gutiérrez, 2015) menciona que una temperatura alta da como resultado un rendimiento creciente en cuanto a la recuperación de colágeno hidrolizado, sin embargo las propiedades funcionales de la gelatina se reducen; principalmente la longitud de la cadena y la composición de aminoácidos, esto significa que la primera afecta de forma positiva la finalidad del estudio y la segunda afecta de forma negativa la base proteica según la finalidad de la investigación, pues se estaría reduciendo su composición nutricional. Por consiguiente, el grado de hidrólisis es una de las características más importantes en la base proteica, ya que influye directamente en la longitud del péptido y en sus propiedades nutricionales, sensoriales y funcionales. En si el grado de hidrólisis está directamente relacionado con la solubilidad y la digestibilidad de los hidrolizados de colágeno, también la recuperación de la proteína y la distribución de la masa molecular de los péptidos solubles son importantes porque proporcionan información sobre el posible uso de los hidrolizados obtenidos (Hleap y Gutiérrez, 2015).

4.3 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE HIDRÓLISIS

Al someter el material biológico a altas temperaturas se genera una hidrólisis de la proteína, tanto el tiempo como la temperatura influyen en este proceso, como se observó en la tabla 9, pues se obtuvo un grado de hidrólisis promedio de 56,50% al aplicar una temperatura de 90°C y un tiempo de 4 horas, algunos autores reportan que un grado de hidrólisis alto es un buen indicador de respuesta, así lo cita Hleap y Gutiérrez (2015), un grado de hidrólisis (GH) bajo, es decir, entre el 1% y el 10% mejora las propiedades funcionales de los productos alimenticios como la solubilidad, el poder espumante y el emulsificante para el caso de la gelatina, mientras que un grado extensivo, es decir mayor al 10%, genera péptidos que tienen elevada solubilidad y presentan mayor absorción gastrointestinal (Copesca, 2012) este resultado se basa según estudios realizados para hidrolizados proteicos provenientes de especies marinas, de esta forma obtener un hidrolizado por encima del 10% es favorable en los resultados alcanzados para la base proteica. También lo mencionan los estudios citados por Salazar, López y Cano (2012) al obtener un grado de hidrólisis del 12%, el producto presentó las mejores propiedades funcionales y nutricionales, comparado con un GH de 22% a 60°C para una hidrólisis enzimática en residuos de capellin (*Mollotus Villosus*) donde se vieron afectadas las propiedades nutricionales del hidrolizado de colágeno (Shahidi y Nacz, 1995). Es por ello que al contrastar los datos hallados, con las diferentes fuentes de información para el GH, se debe tener presente las condiciones a las que se somete el material biológico y su procedencia, pues la temperatura es una variable condicionante del proceso, al aumentarse se logra extraer mayor proteína. Sin embargo, las proteínas son susceptibles a altas temperaturas, debido que se desnaturalizan perdiendo su estructura, razón por la cual no es recomendable aumentar más esta variable (Almonacid, et al., 2019). Del mismo modo la temperatura de desnaturalización del colágeno depende del contenido de agua, el grado de reticulación y el contenido de hidroxiprolina. El agua unida, también parece tener una importancia fundamental en las propiedades fisicoquímicas, estructurales

y biológicas de los biopolímeros, en particular las proteínas (Berendsen y Mascarenhas, como se citó en Gauza, Kubisz, y Mielcarek, 2017). De esta manera se evidencia que las variables más significativas que permiten optimizar el proceso de hidrólisis para la fabricación de colágeno hidrolizado son el pH, dosis de enzima y la temperatura y el tiempo de exposición. Para esta investigación se aplicó una hidrólisis térmica por ende las variables a controlaron fueron la temperatura y el tiempo de extracción como lo indica la metodología.

Con la finalidad de analizar los datos obtenidos y determinar cuáles variables influyeron sobre la variable respuesta (GH) se aplicó el análisis de varianza (ANOVA), donde se demuestra la influencia de los factores: temperatura (A), tiempo (B) y la respectiva interacción (AB), como se observa en la tabla 10. Tanto el factor A, como el B y la interacción influyen en la variable evaluada (GH) al presentar diferencias significativas de (0.0000) –con un $p < 0.05$, de igual modo lo menciona Salazar, López y Cano, (2012) donde encontró que el factor más significativo para el grado de hidrólisis era la temperatura ($p = 0,0065$) a 55°C , al evaluar el efecto del pH y la temperatura en la hidrólisis enzimática de subproductos de la industria bovina, que aunque las condiciones eran diferentes a las del estudio, da una idea clara del resultado obtenido debido a que el material trabajado era de origen bovino, ya que en su gran mayoría, las investigaciones relacionados con el tema se enfocan en las especies marinas. En efecto Kittiphattanabawon, Benjakul, Sinthusamran, y Kishimura (2016) señalan en su estudio que la recuperación de gelatina generalmente aumentó a medida que aumentaron la temperatura y el tiempo de extracción ($P < 0.05$), donde extrajo gelatina de la piel de pez cuchillo asiático (*Chitala Ornata*) bajo rangos de temperatura de 45, 65 y 85°C y un tiempo de 6 y 12 horas.

Tabla 10. Análisis de varianza para el Grado de Hidrólisis (GH)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A: temperatura	154.177	1	154.177	18917.40	0.0000
B: Tiempo	448.202	1	448.202	54994.09	0.0000
AB	6.845	1	6.845	839.88	0.0000
Error total	0.0326	4	0.00815		
Total (corr)	609.256	7			

Fuente: Elaboración propia, 2020
R² =99,99%

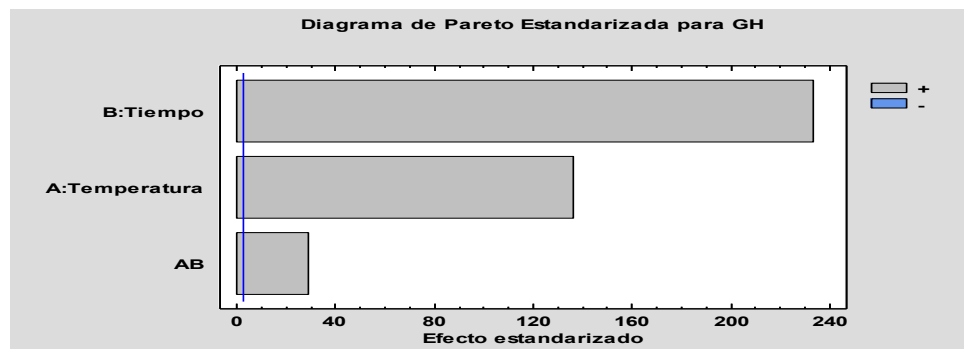
Por otra parte Lleren y Rodríguez (2017) indican que la temperatura y el tiempo no influyeron significativamente sobre el grado de hidrólisis, con un $p > 0.05$, las temperaturas en este estudio fluctúan entre 55 y 65°C y el tiempo 2h y 6h para la obtención de colágeno hidrolizado de pescado, estos resultados se atribuyen al origen y el tipo del material biológico, así lo afirma Wolf (2003); al realizar la conversión de colágeno en gelatina a través de los diferentes procesos de extracción, la estructura de triple hélice se desintegra, por lo tanto la estructura molecular de estos componentes diferirá según el origen y la edad del animal del cual proviene el material biológico. Generalmente la hidrólisis de las proteínas de colágeno se realiza en procesos utilizando ácidos, bases y enzimas, bajo condiciones de tiempo, pH, concentración de enzima y nivel de temperatura. Por ejemplo, la hidrólisis alcalina de proteínas ofrece la ventaja de un bajo costo y puede tener una tasa de recuperación de triptófano del 100%, sin embargo, este proceso resulta en la destrucción completa de la mayoría de los aminoácidos (p. Ej., Pérdida del 100%). Por lo tanto, aunque la hidrólisis alcalina se usa a menudo para la producción de agentes espumantes (p. Ej., Sustitutos de proteínas de huevo) y espumas de extintores de incendios, no se usa ampliamente en la industria alimentaria (Hou, Wu, Dai, Wang y Wu, 2017). Por esta razón al aplicar las pruebas preliminares donde se evaluó el tamaño de partícula de 2x2cm y molido, y al obtener

un gel que presentó un buen comportamiento con respecto a esta variable, se acordó que la muestra que obtuvo mejores resultados era la que se sometió a un proceso de molienda, pues de esta forma se evita aplicar un tratamiento alcalino, esto se atribuye al tamaño de superficie del material biológico, cabe señalar también que en su gran mayoría, estos estudios están relacionados con la extracción de hidrolizados de colágeno provenientes de especies marinas como consecuencias de las escasas investigaciones que existen para la piel de bovino, a esto le sumamos los brotes de la enfermedad de las vacas locas y la fiebre aftosa (Potaros et al. 2009; Gómez, Giménez, López y Montero, 2011), también a la prohibición de la comercialización y expendio de productos de algunos mamíferos en algunas regiones por razones religiosas, esto ha obligado a encontrar nuevas fuentes de hidrolizados como es el caso de las especies marinas o avícolas que no representan riesgo para la salud de los consumidores (Gómez, Giménez, López y Montero, 2011) y en algunos casos también existe otro tipo de limitaciones como son los costos de obtención de colágeno de bovinos, ya que se ve afectado por el alto valor que tiene el levante de este tipo de animales (Beltran, 2011).

En la figura 9 se observa que tanto los factores principales como la interacción son significativos con un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$), por lo tanto el factor A (tiempo) y B (temperatura) así como la interacción se encuentran por encima de la línea de corte, esto indica que afectan significativamente la variable respuesta (GH), ya que producen un aumento de la misma, de igual forma los valores positivos señalan que favorecen los valores altos en la variable respuesta, del mismo modo la variable con mayor importancia es el tiempo. No obstante en las variables de entrada no inciden los valores de una sobre la otra como se observa en la Figura 10, pues son independientes, debido a que el colágeno al ser una proteína, sufre una desnaturalización cuando las condiciones ambiente cambian en este caso un aumento de la temperatura, de esta manera lo explican Djabourov *et al.* (1993) quienes establecieron que las temperaturas mayores a 40 °C destruyen los puentes de hidrógeno y rompen muchos enlaces covalentes que ayudan a desestabilizar la

triple hélice, convirtiéndola en gelatina soluble; pero las temperaturas mucho más altas (superiores a 80 °C) pueden romper demasiados enlaces (Miano, Rojas y Barraza, 2014). De forma similar Achilli y Mantovani (citado por Correa de Moraes y Lopes Cunha, 2013) lo mencionan, si las soluciones de colágeno se calientan por encima de la temperatura de desnaturalización (entre 53 y 63 C), los puentes que estabilizan la triple hélice se rompen y las moléculas adoptan una organización desordenada, perdiendo la estructura fibrilar. Sin embargo, el efecto del tratamiento térmico puede ser reversible o irreversible.

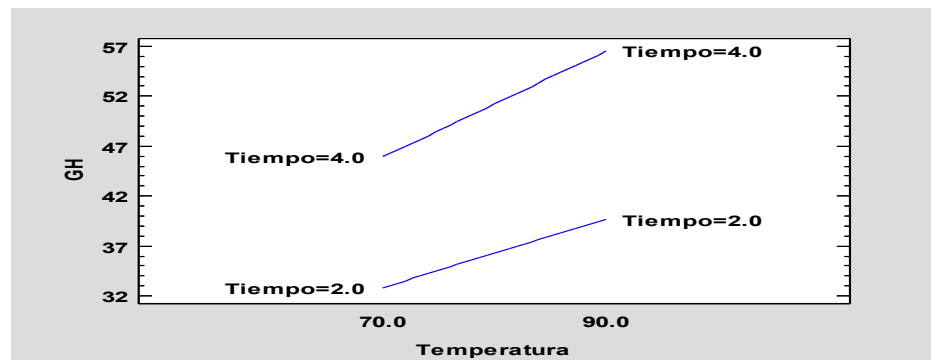
Figura 9. Efecto que ejercen los factores A, B y AB sobre el GH



De esta manera el calentamiento moderado puede resultar en un despliegue local de proteínas, debido a la ruptura de un pequeño número de enlaces consecutivos de hidrógeno. Las condiciones severas de calentamiento resultan en una transición de una estructura helicoidal a una estructura desordenada de colágeno, que es irreversible y depende del tiempo Brandts, y Privalov, (citado por Correa de Moraes y Lopes Cunha, 2013). Por consiguiente, al igual que la temperatura, el tiempo es una variable que debe ser controlada pues a mayor tiempo de extracción se puede ver afectada la calidad del material recuperado en este caso la base proteica.

Para complementar el análisis, en la figura 10 observamos que no existe interacción entre los factores principales que afectan de forma positiva el grado de hidrólisis, pues aunque los factores presentan diferencias significativas, las líneas paralelas indican la no interacción, por ende el tiempo es un factor determinante pero no depende de la temperatura así como tampoco el nivel bajo afecta el grado de hidrólisis, pues aunque se encuentre a 70 °C y obtiene un buen resultado para la variable respuesta.

Figura 10. Interacción entre los factores principales



Lleren y Rodríguez, (2017), refieren que la severidad del tratamiento térmico, la concentración de enzima y el tiempo de reacción influyen en el grado de hidrólisis, encontrándose una relación directa con la calidad de las propiedades funcionales del hidrolizado, determinando que el grado de hidrólisis óptimo es 12.5 %, también (Miano, Rojas y Barraza, 2014) concluyen que a mayores tiempos de extracción se obtiene mayor rendimiento de gelatina y a menor temperatura de extracción mayor es la fuerza de gel en su estudio recomiendan utilizar tiempos entre 220 y 240 minutos, y temperaturas entre 60 y 65°C para la obtención de hidrolizado purificado de colágeno de pescado. Como se puede ver, los datos hallados son superiores a los encontrados en las fuentes bibliográficas, por un lado este resultado se atribuye a los rangos de los factores y a las condiciones del tratamiento, y por otra parte, no

se utilizan ácidos tampoco bases como pretratamiento, aunque la materia prima si presenta un pH básico de 10,4, por ende se recuperó una base proteica con un grado de hidrolisis alto es decir la molécula de colágeno tuvo un mayor rompimiento de los enlaces bajo estas condiciones de tiempo y temperatura, no obstante es importante el control de dichas variables, dado a que su composición nutricional tiende a verse afectada.

4.3 DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA BASE PROTEICA

De acuerdo con los resultados hallados, los factores temperatura (A) y el tiempo (B) presentan efecto significativo sobre la variable respuesta (Digestibilidad) tal como se observa en la tabla 11. Al observar los valores obtenidos para digestibilidad en el laboratorio para cada tratamiento, es pertinente decir que al someterse el subproducto biológico a temperaturas altas (90°C) y a un mayor tiempo (4 horas) arrojó el valor más alto para digestibilidad promedio de $85,9 \pm 0.14$, tal como se observa en la tabla 9 indicando así que la base proteica puede ser utilizada en la formulación de un alimento balanceado, ya que la digestibilidad de un alimento constituye una medida de la calidad nutritiva de la proteína; a mayor digestibilidad, mayor es el aprovechamiento de un alimento en el organismo. Además, Ortiz S. (2003) menciona que para una harina proteica de muy buena calidad corresponden valores superiores al 94% de digestibilidad por pepsina. Por consiguiente, González (1998) señala que las harinas provenientes de las tenerías tienen una digestibilidad ruminal de 80.49%.

Por otra parte, Liang et al. (2014) en su estudio mencionan que el colágeno extraído de una especie marina, más exactamente de la tilapia Nilo se digiere casi por completo en oligopéptidos o aminoácidos, lo que sugiere una alta digestibilidad después de la administración oral. En el proceso de obtención del hidrolizado, la temperatura juega un papel indispensable sobre la variable respuesta, no obstante,

esta variable debe ser controlada ya que a mayor temperatura los aminoácidos tienden a disminuir y por ende su calidad nutritiva. Así lo señala Saiga, et al. (2008) y Herregods, et al.(2011), el valor nutricional del colágeno es muy bajo porque carece de aminoácidos esenciales. También Boomgaart y Baker, (1972) citan que es un ingrediente alimenticio interesante ya que contiene entre 90-95% de proteína cruda, pero está completamente desprovisto del aminoácido triptófano. Además, contiene niveles relativamente bajos de la mayoría de los otros aminoácidos esenciales, pero, por otro lado, el colágeno es muy útil como fuente de péptidos bioactivos. Estos se definen como los fragmentos de secuencias de aminoácidos en una proteína que confieren funciones biológicas más allá de su valor nutricional (Hou et al., 2017). A pesar de que muchos estudios recientes se han centrado en las propiedades bioactivas de los hidrolizados de colágeno, la mayoría de los estudios publicados se han centrado en los subproductos de la pesca (Toldrá, Mora, Reig, 2016), y muy pocos a los subproductos de piel bovina. En los animales los péptidos endógenos cumplen funciones fisiológicas o reguladoras, por ejemplo activan la enzima ATPasa en el intestino delgado y otros tejidos, además muchos péptidos intestinales (secretados por las células Paneth) tienen función antimicrobiana (Bevins y Salzman, 2011 citado por Hou et al., 2017) también el cerebro libera numerosos péptidos que regulan el estado endocrino, la ingesta de alimentos y el comportamiento de los animales (Engel y Jerlhag, 2014 citado por Hou et al., 2017). Todas estas propiedades hacen que los hidrolizados de proteínas de origen animal sean de interés para la fabricación de productos para la alimentación humana o animal. Para el caso específico de mascotas y animales de producción, los objetivos del uso de hidrolizados de subproductos animales deben centrarse en estrategias para optimizar el bienestar animal y/o la producción de alimentos (por ejemplo, aumentar la producción de leche en vacas lecheras, aumentar las tasas de supervivencia en especies acuícolas o aumento de peso en cerdos después del destete). Sin embargo, las aplicaciones funcionales y/o nutricionales de esos hidrolizados para mascotas o animales de producción no han sido ampliamente estudiadas (Martínez, Chamorro, Brenes, 2015).

Por consiguiente, González (1998) sugiere que si se va a elaborar un alimento balanceado para animales con este tipo de materias primas, es indispensable adicionar aminoácidos que se pierden en los tratamientos aplicados para su obtención, tal como la Histidina, isoleucina, metionina y Triptófano. De modo similar Hou, et al. (2017) menciona en su estudio que el valor nutricional de los hidrolizados de proteínas como potenciadores del sabor, ingredientes funcionales y precursores para la síntesis de proteínas dependen de la composición de aminoácidos libres, péptidos pequeños y péptidos grandes en los productos. En la actualidad, dichos datos no están disponibles para los productos comercialmente disponibles de hidrolizados de animales o plantas y deben obtenerse con el uso de HPLC y espectrometría de masas. También manifiestan que solo cuando se conoce la composición de los hidrolizados de proteínas, podemos entender completamente sus componentes funcionalmente activos y los mecanismos de sus acciones. Además, las tasas netas del transporte de péptidos pequeños a través del intestino delgado no se conocen para todos los hidrolizados de proteínas utilizados actualmente en la alimentación animal. Por esta razón es indispensable que se realicen estudios a profundidad sobre estos productos.

Al realizar el análisis de varianza ANOVA, se determinó que los factores A y B, igualmente la interacción (AB) influyen de forma significativa sobre la variable respuesta evaluada (Digestibilidad), presentando un $p < 0,05$ ($p = 0,0000$) como se observa en la tabla 11, resultados esperados, al obtenerlos de forma similar en el análisis estadístico para el grado de hidrólisis, debido a que, tanto la digestibilidad como el GH se correlacionan como consecuencia del rompimiento molecular y la reducción de tamaño de las partículas, pues esto favorece la digestibilidad de la base proteica.

Tabla 11. Analisis de varianza para determinar Digestibilidad

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor –P</i>
A:	72.1201	1	72.1201	3043.04	0.0000
Temperatura					
B: Tiempo	177.661	1	177.661	7496.26	0.0000
AB	11.472	1	11.472	484.05	0.0000
Error total	0.0948	4	0.0237		
Total (corr.)	261.348	7			

Fuente: Elaboración propia, 2020.

R² =99,96%

Aunque el proceso de cocción favorece la pérdida de aminoácidos, también aumenta la digestibilidad de los hidrolizados de proteína, estos también proporcionan proteínas de alto valor biológico; en primer lugar, contienen péptidos cortos y ciertos aminoácidos (taurina, glicina, arginina, ácido glutámico y alanina) que nutren en cierto modo, son estimulantes y potenciadores de la palatabilidad, haciendo que aumente la aceptación de las dietas artificiales. En segundo lugar, los péptidos pequeños y los aminoácidos se absorben fácilmente en el intestino delgado sin una digestión gastrointestinal previa y potencialmente mejoran el crecimiento y el desarrollo de los animales (Gilbert, Wong y Webb, 2008; McCalla, Waugh, Lohry, Pasupuleti y Demain, 2010 citado por Martínez, Chamorro y Brenes, 2015). Tercero, los péptidos similares a hormonas específicos obtenidos por hidrólisis de proteínas podrían modular la motilidad gastrointestinal, el metabolismo endocrino y la ingesta y afectar positivamente el rendimiento del animal (Martínez, citado por Martínez, Chamorro y Brenes, 2015). Los autores recomiendan que esta base proteica debe ser lo más digerible posible para que la especie animal que la consuma tenga un rendimiento óptimo en aumento de peso y producción de huevo o leche (Meeker y Meisinger, 2015 citado por Toldra, Mora y Reig, 2016). De esta manera Murray, et al. (1997) y Rostagno, et al. (2011) menciona que durante la manufactura de la

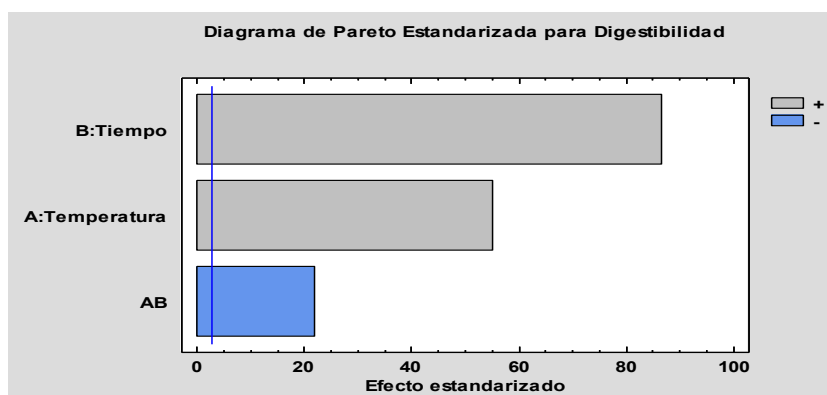
alimentación animal, las comidas de subproductos animales pueden incluirse hasta un máximo de 5, 15 y 25 g por cada 100 g de alimento para aves, cerdos y perros, respectivamente (Toldra, Mora y Reig, 2016). Como se puede observar la finalidad del estudio no es establecer, tampoco tipificar el contenido nutricional sino determinar la capacidad que tiene la base proteica para ser aprovechada en la digestión animal, aunque si es importante conocer el uso y la composición, así como la función de este producto cuando se suministran en las dietas para la alimentación animal, de esta manera la información hallada en las fuentes bibliográficas y documentada en este estudio no deja de ser relevante pues contribuye a que se realicen estudios a profundidad sobre las propiedades de este subproducto que por cierto no está siendo aprovechado y que tal vez hoy está generando un costo más para las curtiembres.

Estudios como el de Gonzales, (1998) donde menciona que la harina de subproducto de tenería es altamente digestible, tanto en su proteína como en su materia orgánica, cuando alcanza niveles cercanos al 100%, da un indicio para que este material biológico puede incluirse en una formulación como ingrediente para la manufactura de un alimento balanceado, no obstante se desconoce su composición nutricional, de esta manera autores como Toldra, Mora y Reig (2016) refieren que el valor nutricional del colágeno es muy bajo porque carece de aminoácidos esenciales, y un bajo contenido de aminoácidos esenciales tales como triptófano, tirosina y cisteína puede causar un desequilibrio nutritivo, esta es la razón por la cual el colágeno no puede ser sustituido por más del 30% del suministro diario requerido (Miller, 1996) pero, por otro lado, el colágeno es muy útil como fuente de péptidos bioactivos, que aunque no son potencialmente ricos en aminoácidos, si facilitan el metabolismo y aportan otras propiedades a los alimentos. Así también la harina procedente de la industria animal se considera una buena opción para reducir los costos de producción de alimentos para animales (Meeker y Meisinger, 2015), ya que la producción local está disponible en comparación con otras fuentes de proteínas, esta resulta más económica.

Al realizar el análisis estadístico y al determinar cuál de los factores influyen de manera significativa sobre la digestibilidad se observa que ambos presentan efecto significativo sobre esta, aunque el factor con mayor importancia es el tiempo, así lo demuestra el diagrama de Pareto (Figura 11), puesto que a mayor tiempo de exposición del material biológico en una fuente térmica hay mayor degradación de las moléculas de colágeno generando cadenas más cortas lo que facilita la digestibilidad de la base proteica

En cuanto a la interacción (AB), que presenta un efecto negativo, esto no afecta de ninguna manera la digestibilidad, pues, aunque el nivel de los factores sean bajos, de igual manera se obtiene un dato de digestibilidad considerable, lo que si se recomienda es controlar las variables de entrada, de esta forma se evita la degradación total de los aminoácidos esenciales y no esenciales del hidrolizado de colágeno como se explicó anteriormente.

Figura 11. Efecto que ejercen los factores (A, B) y la interacción (AB) sobre la digestibilidad

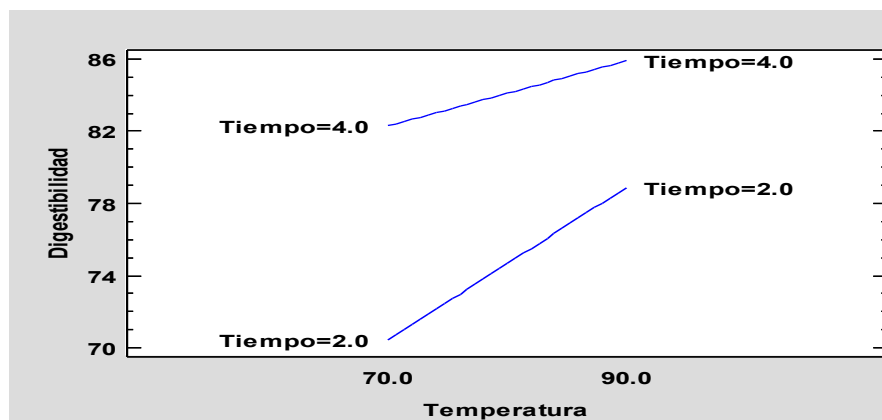


Estos resultados son similares a los obtenidos para el grado de hidrolisis como se ve en la Figura 9, ya que al obtener un grado de hidrólisis alto, también se está contribuyendo a que la base proteica tenga una mayor digestibilidad, debido a que las fibras de colágeno sufren un rompimiento (hidrólisis) que genera que las

cadenas del hidrolizado sean pequeñas, produciendo péptidos lo cual hace que se absorban fácilmente en el intestino delgado sin una digestión gastrointestinal previa y potencialmente mejoran el crecimiento y el desarrollo de los animales (Gilbert et al., 2008 , McCalla et al., 2010 citado por Martínez, Chamorro y Brenes, 2015). Corassa, Lopes, Pena, Freitas y Pena, (2007) mencionan que la hidrólisis proteica de los subproductos de ganado y aves de corral producen hidrolizados de intereses fácilmente absorbibles para la alimentación de animales destetados.

En la figura 12 se muestra que no existe interacción entre los factores por lo tanto uno no depende del otro, esto es, que aunque el tiempo se encuentre en un nivel bajo se van a obtener valores de digestibilidad que no se ven afectados por la temperatura (70°C).

Figura 12. Interacción de los factores principales sobre la digestibilidad



Zhang et al., 2020 señala que calentar a 70 °C durante 0,5 h es bueno para que el colágeno tipo I obtenga una mayor digestión, puesto que el colágeno tipo I es sensible al calor y generalmente comienza a desnaturalizarse a 40 ° C (Ding, Zhang, Wu y Li, 2014 citado por Zhang et al., 2020). El calentamiento a temperaturas superiores a 45 ° C separa los enlaces de hidrógeno covalentes para

desestabilizar la triple hélice y provocar una transición de hélice y por lo tanto, la conversión en gelatina soluble (Gómez-Guillén et al., 2002 citado por Zhang, Olsen, Grossi y Otte, 2013). En sí, el calentamiento reduce la coordinación de las interacciones intermoleculares y la estabilidad de la triple hélice. Cuando la temperatura de calentamiento excede la temperatura de desnaturalización térmica del colágeno tipo I, su estructura espacial de tres hélices se destruye irreversiblemente, y la actividad biológica del colágeno tipo I también se pierde, es decir, la digestibilidad del colágeno tipo I se ve afectada. Bozec & Odlyha (citado por Zhang et al., 2020), también mencionan que el calentamiento prolongado a 60 ° C provocó la degradación del colágeno tipo I. Sin embargo, las muestras calentadas a 80 °C durante 2.5 h tuvieron bandas más débiles, esto podría atribuirse a una mayor descomposición de los fragmentos de colágeno tipo I o la agregación de proteínas inducidas por la oxidación. Estos resultados confirman que el sobrecalentamiento reduce la digestibilidad de las proteínas del colágeno tipo I, mientras que el calentamiento moderado a 70 ° C durante 0,5 h proporciona una mayor digestibilidad (Zhang et al., 2020).

Por consiguiente, se obtuvo que los factores temperatura y tiempo así como la interacción tienen un efecto significativo sobre las variables respuesta grado de hidrólisis y digestibilidad, de manera que con una temperatura de 90°C y un tiempo de 4h se obtuvieron valores altos, tanto para el grado de hidrólisis como para la digestibilidad, también se observó una mayor sensibilidad de las variables respuesta frente al factor tiempo cuando este aumenta, sin embargo a 70°C se obtiene un grado de digestibilidad aceptable. De igual forma es importante el control de la variable temperatura dado a que cuando esta se excede, los aminoácidos se ven afectados, de esta manera lo mencionan las fuentes bibliográficas, ya que la importancia de una base proteica radica en la carga nutricional de esta forma se garantiza la calidad final del producto. Aunque también es cierto que a temperaturas elevadas y tiempos prolongados se producen péptidos bioactivos, estos confieren funciones biológicas más allá del valor nutricional, pues cumplen funciones

fisiológicas y reguladoras en los animales que lo consumen. Los resultados obtenidos sugieren elaborar investigaciones a profundidad sobre el subproducto de origen animal, ya que por un lado se promueve la incorporación de materias primas alternas y por otro se está aportando a mejorar la rentabilidad de las industrias curtiembres, dándole un valor agregado a un subproducto que presenta características especiales, y que puede ser útil en la elaboración de un alimento para la alimentación animal.

5. CONCLUSIONES

La materia prima se caracteriza por su composición en proteínas, grasa, cenizas, un gran porcentaje de humedad y un pH alcalino como consecuencia de los tratamientos previos a la obtención del subproducto. El contenido de agua y el pH del material biológico juegan un papel importante en el proceso de hidrolisis, debido a que facilitan la desnaturalización de las moléculas de colágeno, de esta forma se obtienen cadenas cortas, por lo que facilita la solubilidad del producto final (base proteica).

El tratamiento térmico aplicado en la hidrolisis del colágeno de la piel de ganado bovino para la obtención de la base proteica es una técnica adicional que se aplica en los procesos de extracción de hidrolizados de colágeno. Para este estudio se utilizó como el proceso principal, pues no se aplicaron pretratamientos. Al aplicar los diferentes tratamientos térmicos se logró extraer una cantidad considerable del hidrolizado de colágeno (base proteica), pues el resultado así lo indica, donde las variables de entrada más relevantes fueron la temperatura (90°C), el tiempo (4h), se concluye entonces que los tratamientos térmicos son procesos que se pueden aplicar sin necesidad de adicionar ácidos, tampoco bases, para obtener la base proteica, solo es necesario controlar las variables que influyen en él, para evitar la desnaturalización total de las proteínas y por consiguiente la pérdida de aminoácidos que componen la molécula de colágeno.

Al aplicar el análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza del 95% ($P < 0,05$), se determina que los factores tiempo y temperatura presentan un efecto significativo sobre el grado de hidrólisis (GH), no obstante las variables deben ser controladas para evitar la pérdida de aminoácidos, importantes en la nutrición animal y la efectividad de la digestibilidad tal como lo indica la literatura, debido a que algunos aminoácidos son lábiles a los tratamientos térmicos, por eso

recomienda que en la formulación de los alimentos balanceados los hidrolizados de colágeno se utilicen como parte de los ingredientes dado que carecen de aminoácidos esenciales.

Para evaluar la base proteica y hallar la digestibilidad se aplicó el método in vitro. Se obtuvo entonces que las variables determinantes son el tiempo (4horas) y la temperatura (90°C), bajo estos parámetros se obtiene un porcentaje promedio de $85,9 \pm 0.14$ de digestibilidad. Bajo estos resultados se puede afirmar que la base proteica obtenida presenta alta digestibilidad por lo tanto puede ser aprovechada en la manufactura de alimentos balanceados bajo los parámetros de calidad y generando en las curtiembres una relación costo-beneficio a estos residuos que en la actualidad se desaprovechan.

Por último, los residuos biológicos provenientes de la agroindustria son una fuente importante de materias primas, que poseen características y propiedades funcionales y nutricionales que al darle un valor agregado proporcionan en las industrias rentabilidad, así como también se contribuye a mitigar el impacto ambiental que se genera en la manufactura de los bienes alimentarios y no alimentarios.

6. RECOMENDACIONES

Los estudios reportados para esta materia prima que proviene de la piel de bovino son bastante limitados, no obstante las curtiembres en Colombia producen una cantidad considerable de subproductos que al no realizarles ningún tratamiento estarían contribuyendo a la contaminación del entorno por ende se hace indispensable despertar en las instituciones que se encargan de la investigación apoyar este tipo de estudios.

Realizar estudios a mayor profundidad y de esta forma determinar a qué tipo de animal y en qué etapa se puede suministrar esta base proteica de acuerdo con las características nutricionales que posee.

También es indispensable realizar un análisis más a fondo sobre la digestibilidad de la base proteica, pues se encontró que las temperaturas y el tiempo prolongado terminan afectándola.

BIBLIOGRAFÍA

ASOCIACIÓN NACIONAL DE EMPRESARIOS DE COLOMBIA. Cámara de la Industria de Alimentos. Disponible en <http://www.andi.com.co/cia/Paginas/default.aspx>

ALLTECH. Encuesta global sobre alimento balanceado. 2017. Disponible en <https://go.alltech.com/encuesta-global-sobre-alimento-balanceado-de-alltech-2017>

ALLTECH. Encuesta global sobre alimento balanceado. 2019. Disponible en https://www.alltech.com/sites/default/files/2019-02/GFS_Brochure_2019-SPANISH.pdf

ALMONACID JIMENEZ, Leidy., VALLEJO RODRIGUEZ, Juan., AGUDELO VALENCIA, Rafael., HERNÁNDEZ FERNANDEZ, Javier., ORTIZ MEDINA, Oscar y OVALLE GONZALEZ, Diana. Evaluación de la hidrólisis enzimática de wet white asistida con ultrasonido para obtener colágeno hidrolizado. En: Revista Facultad de Ingeniería. Vol., 28. No 52 (Feb. 2019); p. 59-75. Disponible en <https://doi.org/10.19053/01211129.v28.n52.2019.9654>.

ÁLVAREZ. Carlos Armando., PÉREZ. Héctor., QUINCOSA. Jorge., MARTIN. Tania y SANCHEZ. Alexei. Fisiología animal básica. La Habana, Cuba: Editorial Feliz Varela, 2009.

AHMAD, Tanbir., ISMAIL, Amin., AHMAD, Aqlima., KHALIL, Khalilah., KUMAR, Yogues., ADEYEMI, Kazeem., y SAZILI, Awis. Recent advances on the role of process variables affecting gelatin yield and characteristics with special reference to enzymatic. Extraction: A review. En: Food Hydrocolloids. Vol., 63. (Feb. 2017); p.85-96. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.007>AKESON,

AOAC. (Association of Oficial Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. Virginia, 1990. p. 1000-1050.

AUSTIN, John., RODRÍGUEZ, Sheila., SUNG, Pei-Fang y HARRIS, Michael. Utilizing microwaves for the determination of moisture content independent of density. En Powder Technology. Vol., 236. (Feb. 2013); p.17-23 <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2012.06.039>

AYKIN DINÇER, Elif., KOC, A. y ERBAS, M. Extraction and physicochemical characterization of broiler (*Gallus gallus domesticus*) skin gelatin compared to commercial bovine gelatin. En: Poultry Science Association Inc. Vol., 96. No 11 (Nov. 2017); p. 4124-4131

BENÍTEZ, Ricardo., IBARZ, Albert y PAGAN, Jordi. Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. En: Acta bioquím. clín. Latinoam. Vol., 42. No 2 (Jun. 2008); p. 227-236. Disponible en http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572008000200008

BEGHETTO, Valentina., ZANCANARO, Aurora., SCRIVANTI, Alberto., MATTEOLI, Ugo., y POZZA, Giorgio. The leather Industry: A Chemistry Insight Part I: an overview of the Industrial process. En: Sciences at ca'foscari. (Abr. 2013).DOI: 10.7361/SciCF-

BELTRÁN, Jimena. Valoración de la innovación tecnológica del proceso de obtención de colágeno a partir de piel de tilapia (*Oreochromis sp*) para su aplicación en el mercado cosmético. Bogotá, 2011. Trabajo de grado. (Magíster en Ingeniería Industrial) Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería.

BOOMGAARDT, John y BAKER, David. Sequence of Limiting Amino Acids in Gelatin For the Growing Chick. Poultry Science. Vol., 51. No 5 (Sep. 1972); p. 1650-1655

BORRAS SANDOVAL, Luis y TORRES VIDALES, Giovanny. Producción de alimentos para animales a través de fermentación en estado sólido – FES. Artículo de Revisión. Vol., 20. No 2 (Agos. 2016); p. 47-54. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v20n2/v20n2a07.pdf>

CEBIL, Nur., DURAK, Zeki., TOKER, Omersaid. S., SAGDIC, Osman y ARICI, Muhammet. An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. Food Chemistry. Vol., 190. (Jun. 2016); p.1109 – 1115.

CENTRO DE ACTIVIDADES REGIONALES PARA LA PRODUCCIÓN LIMPIA (CAR/PL), Oportunidades de prevención de la contaminación en el sector del curtido en la región mediterránea, 2000. Disponible en: <https://www.linguee.com/english-spanish/translation/osmotic+swelling.html>

COVINGTON, Anthony. Tanning Chemistry: The science of leather: The Royal Society of Chemistry. 2011: 520 p.

COLORADO, Ana Cristina., AGUDELO, Carlos. Andrés y MONCADA, María Elena. Análisis de biomateriales para uso en ingeniería de tejido de piel: revisión. En: Revista Ingeniería Biomédica. Vol., 7. No 14 (Jul- Dic.2013); p.11-23. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/rinbi/v7n14/v7n14a02.pdf>

COMISIÓN NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE. Guía para el control y prevención de la contaminación industrial. 1999. Disponible en <https://www.mvotma.gub.uy/ambiente/guias-tecnicas/item/download>

CORREA DE MORAES, Marisa., y LOPES CUNHA, Rosiane. Gelation property and water holding capacity of heat-treated collagen at different temperature and pH values. En: Food Research International. Vol., 50. No 1(Jun. 2013); p 213–223.

DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL ESTADÍSTICO. Censo general Municipio de Belén Nariño. DANE, 2005. Disponible en https://www.dane.gov.co/files/censo2005/PERFIL_PDF_CG2005/520-83T7T000.PDF

De WOLF, Frits A. Collagen and gelatin. Chapter V In Anonymous Progress in Biotechnology. Elsevier. 2003. 133-218p.

FATEMEH, Rafieain., JAVAD, Keramat y SHAHEDI, Mohammad. Physicochemical properties of gelatin extracted from chicken deboner residue. En: LWT -Food Science and Technology. Vol., 64. No 2 (Dic. 2015); p. 1370-1375

GAVILANES, Rosa. Estudio de un pelambre reductor-oxidante. Trabajo de grado. Cataluña, 2011. Universidad Politécnica de Cataluña. Disponible en [https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/14037/proyecto%20final%20de%20carrera%20corregidoa\[1\].pdf](https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/14037/proyecto%20final%20de%20carrera%20corregidoa[1].pdf)

GAUZA, Marlena., KUBISZ, Leszek., y MIELCAREK, S. Comparison of thermal properties of fish collagen and bovine collagen in the temperature range 298–670 K. En Materials Science and Engineering. Vol., 80. (Jun. 2017); p.468–470.

Gelatin Manufacturers Institute of America. Standard testing methods for gelatin, 2013. 27 p.

GHAVIDEL, Reihaneh & PRAKASH, Jamuna. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. En: LWT - Food Science and Technology. Vol., 40. No 7 (Sep.2007); p.1292-1299. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.08.002>

GROBBEN, A.H., GOEDKNEGT, M.C. y STEELE, P. J .Industrial production of gelatin. En De WOLF. Frits.A. Chapter V Collagen and gelatin. In Anonymous Progress in Biotechnology. Elseiver 2003. 133-218p.

GIMÉNEZ, Begona., GÓMEZ, M. del Carmen y MONTERO, Pilar. The role of salt washing of fish skins in chemical and rheological properties of gelatin extracted. En: Food hydrocolloids. Vol., 19. No 6 (Nov. 2005); p. 951-957

GONZÁLEZ ROMO, Alma y JIMÉNEZ VÁZQUEZ, Johnny. Desarrollo de un método para disminuir el cromo iii de los desperdicios de la piel curtida y su posterior reciclaje. México, 2007, Tesis de grado. (Ingeniero Químico Industrial). Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas. Departamento de Ingeniería Química Disponible en:tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/7329/1/JIMENEZ%20VAZQUEZ.pdf

GONZÁLEZ, María Estela. Valor nutricional de subproductos de piel de bovino e identificación de sus aminoácidos. Monterrey, 1998. Tesis de maestría. (Maestría en Ciencias Especialidad en Alimentos). Universidad Autónoma Nuevo Leon. Facultad de ciencias biológicas. Recuperado de <http://eprints.uanl.mx/6027/1/1080087117.PDF>

GÓMEZ GUILLEN, María. C., GIMÉNEZ, Begona., LOPEZ CABALLERO, María Elvira y MONTERO, Pilar. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. En: Food Hydrocolloids. Vol., 25. No 8 (Dic. 2011); p. 1813-1827.

HLEAP, José Igor., y GUTIÉRREZ, Claudio Alejandro. Hidrolizados de pescado producción, beneficios y nuevos avances en la industria. Una revisión. En: Acta Agron. Vol., 66. No 3 (Dic. 2015); p.311-322.

HOONG, Yau., MOHAMMADI, Abdorreza., HUDA, Nurul., ARIFFINA F y KARIMA, Alias. Comparison of physicochemical and functional properties of duck feet and bovine gelatins. En: J Sci Food Agric. Vol., 97. No 5 (Jul. 2016).DOI 10.1002/jsfa.7970

HOU, Yongging., WU, Zhenlong., DAI, Zhaolai., Wang, Genhu y WU, Guayao. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. En: Journal of Animal Science and Biotechnology. Vol., 8. No 24 (Mar. 2017). doiorg.bibliotecavirtual.unad.edu.co/10.1186/s40104-017-0153-9

INTELIGENCIA DE MERCADOS. Informe sectorial de alimento para animales en Colombia Mayo del 2016. {En línea}. {4 noviembre de 2019} disponible en <https://www.legiscomex.com/BancoMedios/Documentos%20PDF/informe-sectorial-sector-alimento-animales-colombia-2016-descripcion-sector-rci307.pdf>

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS. Industrias alimentarias. Gelatina. Santafé de Bogotá.: ICONTEC, 1981.NTC 1629.

JORDÁN NUÑEZ, Mario Fabián. Obtención del colágeno por hidrólisis alcalina-enzimática del residuo de “wet blue” en el proceso de curtición. Riobamba, 2011.

Tesis de grado. (Ingeniero en Biotecnología Ambiental) Escuela superior politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Disponible en <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1630/1/236T0048.pdf>

JOOD, Sudesh., CHAUHAN, Bhag Mal., & KAPOOR, Amin. Polyphenols of chickpea and blackgram as affected by domestic processing and cooking methods. En: Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol., 39. No 2 (1987); p.145-149. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740390207>

KAERUANG, Phanngam., BENJAKUL, Sootawat., y PRODPRAN, Thummanoom. Molecular and functional properties of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket as affected by extracting temperatures. En: Food Chemistry. Vol., 138 (Nov. 2013); p. 1431-1437. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.114>

KIM, Seong., KIM, Sung., YOON, Gook., NAM, Sang., LEE, Sang. y KIM, Jung. Gelatin-based sponge with Ag nanoparticles prepared by solution plasma: Fabrication, characteristics, and their bactericidal effect. En: Food Hydrocolloids. Vol., 14. No 2 (Jul. 2014); p. 174-179.

KITTIPHATTANABAWON, Phanat., BENJAKUL Sootawat., SINTHUSAMRAN, Sittichoke., y KISHIMURA, Hideki. Gelatin from clown featherback skin: Extraction conditions. En: LWT - Food Science and Technology. Vol., 66. (Marz. 2016); p. 186-192.

LIANG, Qiufang., WANG, Lin., HE, Yuanqing., WANG Zhenbin., XU, Junmin y MA, Haile. Hydrolysis kinetics and antioxidant activity of collagen under simulated gastrointestinal Digestión. En: Journal of functional foods. Vol., 11. (Nov. 2014); p. 493–499.

LIU, Hui., YIN, Zhenhua., ZHANG, Qian., LI, Xiumin, TANG, Keyong., LIU, Jie., PEI, Ying., ZHENG, Xuejing. y FERAH, Cem. Mathematical modeling of bovine hides swelling behavior by response surface methodology for minimization of sulfide pollution in leather manufacture. En: Journal of Cleaner Production. Vol., 237. No 2 (Nov. 2019). doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117800

LIU, Wentao., TIAN, Zhenhua., LI, Conghu. y LI, Guoying. Thermal denaturation of fish collagen in solution: A calorimetric and kinetic analysis. En: Thermochemica Acta. Vol., 581. No 10 (Abr. 2014); p. 32-40.

LUNA Karla Ivonne. Pruebas de digestibilidad In situ de alimentos no convencionales para ganado bovino. Torreón, 2017. Trabajo de grado. (Médico veterinario Zootecnista). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Disponible en

[http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/42532/KARLA A%20IVONNE%20LUNA%20MEDINA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/42532/KARLA%20IVONNE%20LUNA%20MEDINA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

MANN, Hans. “Desarrollo y nutrición animal S.A. El alimento balanceado: De fabricación en planta de alimentos al consumo en granjas”. {En línea} 2010 {5 noviembre de 2019} disponible en

<https://www.engormix.com/avicultura/articulos/fabricacion-de-alimento-balanceado-t28616.htm>

MIANO, Alberto., ROJAS, Carmen y BARRAZA, Gabriela. Influencia de la temperatura y tiempo de extracción en la fuerza de gel y rendimiento de gelatina a partir de piel de tollo (*Mustelus mento*). Scientia Agropecuaria. Vol., 5. No 3 (2014);p. 140-147.

MILLER, Albert.T. Current and future uses of limed hide collagen in the food industry. En: Journal of American Leather and Chemists Association. Vol., 91. No 7 (1996); p.183–189.

MARTÍNEZ ÁLVAREZ, Oscar., CHAMORRO, Susana., y BRENES, Agustín. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. En: Food Research International. Vol 73. (Jul. 2015); p. 204-212.

MORERA. José María. Química Técnica de Curtición. 2ª Edición. España: Ceti, 2007. 16-18p.

MURALIDHARAN, Nagarajan., SOOTTAWAT, Benjakul., THUMMANOON, Prodpran., PONUSA, Songtipya., y HIDEKI, Kishimura. Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures. En: Food Hydrocolloids. Vol., 29. No 2 (Dic. 2012); p. 389 – 397.

Municipio de Belén. Plan de desarrollo Municipal 2012-2015[documento], {Citado el 10 de Abril de 2018} Disponible en http://belen-narino.gov.co/apc-afiles/6362353666316563326631366532643-0/PLAN_DE_DESARROLLO_MUNICIPIO_DE_BELEN_2012_2015.pdf

NORZIAH, Hani., KEE, H. y NORITA, M. Response surface optimization of bromelain-assisted gelatin extraction from surimi processing wastes. En: Food Bioscience. Vol., 5 (Mar. 2014); p. 9-18. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2013.10.001>

NOORZAI, Safiya., VERBEEK, Johannes Reinhard., LAY, Mark Christopher y Swan, Janis. Collagen Extraction from Various Waste Bovine Hide Sources. En: Waste Biomass Valor. Vol., 7 (Oct. 2019). <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00843-2>

OLSEN, David., YANG, Chulin., BODO, Michael., CHANG, Robert., LEIGH, Scott., BÁEZ, Julio., CARMICHAEL, David., PERALA Maritta., HAMALAINEN, Eija., JARVINEN, Marko., y POLAREK, James. Recombinant collagen and gelatin for drug delivery. En: Advanced Drug Delivery Reviews. Vol., 55 No 12 (Nov. 2013); p.1547-1567.

ORTIZ, Vicente y MARTÍNEZ, Luis Juvenal. Obtención de gelatina comercial a partir de residuos de curtiembre. Popayán, 2009, 81p. Trabajo de grado (Ingeniero Agroindustrial) Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias

OSORIO CARMONA, Esteban., GIRALDO CARMONA, John y NARVÁEZ SOLARTE, William. Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina. En: vet.zootec. Vol., 6. No 1 (Feb. 2012); p. 87-97.

Parra, Jaime y Gómez, Andrés. Importancia de la utilización de diferentes técnicas de digestibilidad en la nutrición y formulación porcina. En: Rev. MVZ Córdoba. Vol., 14. No 1, (Dic. 2009); p.1633-1641

Picó, Yolanda. Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications. Amsterdam:Academic Press. 2012.

ROJAS AMAYA, Franklin Vicente. Estudio económico-financiero del aprovechamiento de las grasas extraídas del residuo de descarte “unche” derivado del proceso de curtiembre en el Municipio de Villapinzón. Bogotá, 2010. Trabajo de grado. (Magister en ciencias Agrarias). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Recuperado de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/3052/1/7>

REYES MENA, Claudia María. Recuperación del colágeno libre de cromo de los residuos sólidos postcurtiembre en la industria del cuero. Ecuador, 2016. Tesis de grado. (Ingeniera Ambiental). UDLA. Facultad de Ingenierías y Ciencias Agropecuarias Disponible en <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/5208/1/UDLA-EC-TIAM-2016-05.pdf>

SERNA COCK, Liliana., PINEDA, Darío y AYALA APONTE, Alfredo. Aplicación de endopeptidasa alcalina en carnaza bovina para mejorar la calidad de la gelatina. En: Revista Colombiana de Química. Vol., 36. No 2 (Agos. 2007); p. 169 - 181.

SALAZAR POSADA, C., LÓPEZ PADILLA, A., y CANO SALAZAR, J. A. Efecto del pH y la temperatura en la hidrólisis enzimática de subproductos de la industria bovina. En: Revista Lasallista de Investigación. Vol., 9. No 2 (Nov. 2012); p. 26-32.

ASENCIO SALDARRIAGA, Stephanie Michelle, (2014). "Industria de curtido. Curtiembres en la ciudad de Trujillo" {En línea}. {4 de diciembre de 2019} disponible en: (<https://es.calameo.com/read/00316420954e8b79f6f40>).

STAHMANN, Walter y MARK. A Pepsin Pancreatin Digest Index of Protein Quality Evaluation. En: The Journal of Nutrition. Vol., 83. No 3 (Jul.1964); p.257-261. <https://doi.org/10.1093/jn/83.3.257>

SHAHIDI. Fereidoon., y NACZK. Marian. Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications. Lancaster, PA, USA: Technomic Publishing Company Inc.1995.

TALAPPHET, Natchanok., PROMMAJAK, Trakul y RAVIYAN Patcharin. Process Optimization and Properties of Crude Gelatin Extracted from Tannery Bovine. Hide En: Food and Applied Bioscience Jornal. Vol., 5 No 3 (2017); p.132–148

TOLDRA Fidel., MORA Leticia y REIG, Milagro. New insights into meat by-product utilization. En: Meat Science. Vol., (120). (Oct. 2016); p. 54-59 DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.04.021

UYEH, Daniel., PAMULAPATIB, Trinadh., MALLIPEDDIB, Rammohan., PARK, Tusan., ASEM, Senorpe., WOO, Seungmin., KIM, Junhee., KIM, Yeongsu y HA, Yushin. Precision animal feed formulation: An evolutionary multi- objective approach. En: Animal Feed Science and Technology. Vol., 256. (Sep. 2019). <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114211>

VIDAL, Alessanda., CANSIAN, Rogerio., MELLO, Renius., KUBOTA, Eernesto., DEMIATE, Ivo., FERREIRA, Acacio y PRESTES, Rosa. Effect of ultrasound on the functional and structural properties of hydrolysates of different bovine collagens. En: Food Science and Technology. Vol., 40. No 2 (ab-Jun, 2020). doi10.1590/fst.00319.

ZARAI, Zied., BALTI, Rafik., MEJDOUB, Hafedh., GARGOURI, Youssef. y SAYARI, Adel. Process for extracting gelatin from marine snail (*Hexaplex trunculus*): Chemical composition and functional properties. En: Process Biochemistry. Vol., 47. No (12), (Dic. 2012); p. 1779-1784.

ZHANG, Yuhao., OLSEN, Karsten., GROSSI, Alberto y OTTE, Jeannette. Effect of pretreatment on enzymatic hydrolysis of bovine collagen and formation of ACE-inhibitory peptides. En: Food Chemistry. Vol., 141. No 3 (Dic. 2013); p. 2343-2354.

ZHANG, Miao., ZHAO, Di., ZHU, Shuran., NIAN, Yingqun., XU, Xinglian., ZHOU, Guanghong y LI, Chunbao. Overheating induced structural changes of type I collagen and impaired the protein digestibility. En: Food Research International. Vol., 134. (Ago. 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109225>

ZHANG. Zheng., ORTIZ. Ophir., GOYAL. Ritu y KOHN. Joachim. Principles of Tissue Engineering: Biodegradable Polymers. 4ta edición. 2019. 441-473p.

ANEXOS

ANEXOS 1. CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA

- **Determinación de humedad**

$$Pms = (Pc + ms) - Pc$$

$$Ph = Pm - Pms$$

$$\%H = \left(\frac{Ph}{Pm} \right) * 100$$

Dónde:

Pc: Peso de caja de Petri en g.

Pm: Peso de muestra en g.

Pc + ms: Peso de caja más muestra seca en g.

Pms: Peso de muestra seca en g.

Ph: Peso de humedad en g

Cuadro 1. Datos de análisis de humedad para las 3 muestras por triplicado

Muestra	P c	P m	P c + m s	P ms	P h	% H
1.1	99,101	10,050	102,026	2,925	7,125	70,9
1.2	89,181	10,066	92,291	3,110	6,956	69,9
1.3	89,801	10,045	92,865	3,064	6,981	69,8
2.1	87,978	10,028	90,884	2,906	7,122	71,02
2.2	89,362	10,002	92,257	2,896	7,106	71,05
2.3	88,134	10,001	91,074	2,940	7,060	70,8
3.1	99,306	10,042	102,238	2,932	7,110	71,8
3.2	93,608	10,029	96,476	2,868	7,161	71,4
3.3	88,926	10,090	91,852	2,926	7,164	71,2

- **Determinación de Grasa**

-

$$Pg = (Pb + p + g) - (Pb + p)$$

$$\%Gbs = \left(\frac{Pg}{Pm} \right) * 100$$

$$\%Gbh = \frac{[\%Gbs * (100 - \%H)]}{100}$$

Donde:

Pb + p: Peso del balón más peso de las perlas en g.

Pm: Peso de la muestra en g.

Pb + p + g: Peso del balón más peso de las perlas más peso de la grasa en g.

Pg: Peso de la grasa en g.

% G bs: Porcentaje de grasa en base seca.

% G bh: Porcentaje de grasa en base húmeda.

Cuadro 2. Datos de análisis de grasa para las 3 muestras por triplicado

Muestra	Pb + p	Pm	Pg	% G bs	% G bh
1.1	89,054	3,50	0,168	4,81	1,40
1.2	107,359	3,50	0,169	4,83	1,40
1.3	88,810	3,51	0,170	4,84	1,41
2.1	89,061	3,51	0,170	4,83	1,40
2.2	112,083	3,50	0,168	4,81	1,39
2.3	109,610	3,51	0,170	4,83	1,40
3.1	89,054	3,51	0,169	4,83	1,40
3.2	107,359	3,50	0,170	4,79	1,39
3.3	88,810	3,51	0,168	4,83	1,41

- **Proteína**

Estandarización del ácido

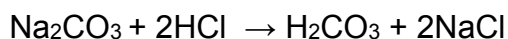
Cuadro 3. Datos de la estandarización del ácido.

Muestra	PNa ₂ CO ₃	V HCl	[HCl]
1	0,010	2,18	0,08646
2	0,010	2,04	0,09240
3	0,011	2,22	0,09340
N			0,90750

PNa₂CO₃: Peso en gramos de Na₂CO₃.

V HCl: Volumen de HCl gastado en mL.

[HCl]: Concentración del HCl en normalidad.



$$[\text{HCl}] = \frac{[(W \text{ Na}_2\text{CO}_3) * (1\text{mol Na}_2\text{CO}_3 / 106,1\text{g Na}_2\text{CO}_3) * (2\text{mol HCl} / 1\text{mol Na}_2\text{CO}_3)]}{(V \text{ HCl L})}$$

Donde:

PNa₂CO₃: Peso en gramos

V_{HCl} (L) Volumen en litros.

P_m: Peso de muestra en g.

V_{HCl}: Volumen gastado de HCl en mL.

N: Normalidad del ácido estandarizado.

Factor: 5,55

% N: Porcentaje de nitrógeno.

% P b.s: Porcentaje de proteína en base seca.

% P b.h: Porcentaje de proteína en base húmeda.

$$\% N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 1000}$$

$$\% P b.s = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times \text{factor}}{m \times 1000}$$

$$\% P b. h = [\% P b. s * (100 - \% H)] / 100$$

Cuadro 4. Datos de análisis de proteína para las 3 muestras por triplicado

Muestra	P m	V HCl	N	%N	% P b.h
1.1	0,210	25,64	0,09075	15,512	27,4
1.2	0,218	26,82	0,09075	15,631	27,1
1.3	0,217	26,56	0,09075	15,550	27,2
2.1	0,212	25,92	0,09075	15,534	27,3
2.2	0,215	26,35	0,09075	15,571	27,3
2.3	0,211	25,75	0,09075	15,505	27,2
3.1	0,213	26,05	0,09075	15,538	27,3
3.2	0,211	25,70	0,09075	15,475	27,4
3.3	0,215	26,25	0,09075	15,512	27,1

- Cenizas**

$$Pcs = (Pc + cs) - (Pc)$$

$$\%Cbh = \left(\frac{Pcs}{Pm} \right) * 100$$

Donde:

Pc: Peso del crisol en g.

Pm: Peso de muestra en g.

Pc + cs: Peso de crisol más peso de cenizas en g.

% Cbh: Porcentaje de cenizas en base húmeda.

Cuadro 5. Datos de análisis de cenizas para las 3 muestras por triplicado

Muestra	Pc	Pm	Pc + cs	% Cbh
1.1	36,236	1,953	36,2430	0,39
1.2	43,169	1,970	43,1758	0,40
1.3	47,975	1,965	47,9817	0,39
2.1	39,087	1,990	39,0939	0,38
2.2	50,376	1,983	50,3828	0,42
2.3	49,697	2,000	49,7036	0,39
3.1	36,236	1,978	36,2431	0,40
3.2	43,169	1,960	43,1759	0,40
3.3	47,975	1,950	47,9818	0,44

Cuadro 6. Datos de análisis próximo y pH de las tres muestras por triplicado.

Muestra	% Proteína	% Humedad	% Grasa	% Cenizas	pH
1	27,4	70,9	1,40	0,39	10,4
1	27,1	69,9	1,40	0,40	10,3
1	27,2	69,8	1,41	0,39	10,3
2	27,3	71,02	1,40	0,38	10,4
2	27,3	71,05	1,39	0,42	10,3
2	27,2	70,8	1,40	0,39	10,4
3	27,3	71,8	1,40	0,40	10,3
3	27,4	71,4	1,39	0,40	10,4
3	27,2	71,2	1,41	0,44	10,3

Cuadro 7. Datos de análisis proximal y pH, promedio de cada muestra.

Muestra	% Proteína	% Humedad	% Grasa	% Cenizas	Ph
1	27,2	70,20	1,40	0,39	10,33
2	27,3	70,95	1,39	0,40	10,37
3	27,4	71,47	1,41	0,41	10,33

ANEXOS 2. IMÁGENES DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE LA BASE PROTEICA



Imagen 1. Lavado del material biológico



Imagen 2. Acondicionamiento del residuo- Corte 2x2 cm



Imagen 3. Acondicionamiento del residuo- Molido



Imagen 4. Pesaje de la muestra



Imagen 5. Tratamiento térmico aplicado



Imagen 6. Muestras de los diferentes tratamientos aplicados 70 y 90°C



Imagen 7. Secado de las muestras

